

Aus der Frauenklinik der Freien Universität Berlin
in Berlin-Charlottenburg (Fachbereich 3-WE 14)
Direktor: Prof.Dr. med. H. Lax

Vergleichende Untersuchungen über den Fibrinokinasengehalt gut- und bösartiger Veränderungen der weiblichen Brustdrüse

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kurt Heuberger
Neustadt/Coburg

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Frauenklinik der Freien Universität Berlin
in Berlin-Charlottenburg (Fachbereich 3-WE 14)
Direktor: Prof.Dr. med. H. Lax

Vergleichende Untersuchungen über den Fibrinokinasengehalt gut- und bösartiger Veränderungen der weiblichen Brustdrüse

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Kurt Heuberger
Neustadt/Coburg

Referent: Professor Dr.med. G. Kreuzer

Korreferent: Professor Dr.med. H. Kirstaedter



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fach-
bereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 19.1.76

I N H A L T S Ü B E R S I C H T

	<u>Seite</u>
I. Einleitung	
A. Allgemeines	5
B. Die Gewebsfibrinolyse	8
C. Zielsetzung der Arbeit	10
II. Material	11
III. Methodik	
A. Herstellung der Gewebshomogenate	14
B. Geräte	15
C. Herstellung der Rinderfibrinplatten	16
D. Hitzeplatte	17
E. Testansätze	19
F. Statistische Berechnung	25
IV. Ergebnisse	
A. Die fibrinolytische Aktivität der Karzino- nome, Mastopathien und Fibroadenome	26
B. Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome	30
C. Die lytische Aktivität der "Szirrhen" und der vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinome	35
D. Die fibrinolytische Aktivität der Mastopathien	36

	<u>Seite</u>
E. Der Aktivatorgehalt des neben Karzinomgewebe entnommenen Mastopathiegewebes	38
F. Sondergruppe	39
V. Besprechung	41
VI. Zusammenfassung	48
VII. Literaturübersicht	50
VIII. Anhang	
A. Im Anhang verwendete Abkürzungen	57
B. Tabellen	58
C. Abbildungen	70

I. Einleitung

A. Allgemeines

Das Studium des Wachstums, der unterschiedlichen Wuchsformen und Invasionskapazitäten bösartiger Geschwülste lenkte das Augenmerk verschiedener Untersucher auf fibrinoproteolytische Vorgänge im Tumorgewebe.

Schon 1931 untersuchte KREBS (19) die proteolytische Aktivität gut- und bösartiger Geschwülste und gelangte zu dem Ergebnis, daß Malignome hinsichtlich ihrer proteolytischen Wirksamkeit keine Sonderstellung einnehmen. Auch KLEINMANN (17) berichtet über ein den normalen Geweben völlig entsprechendes proteolytisches Verhalten der malignen Tumoren und verneint eine mögliche Beziehung zwischen gesteigertem Wachstum und proteolytischen Vorgängen.

SANTESSON (33, 34) untersuchte bei Mäusen Mammatumoren unterschiedlicher Differenzierungsgrade. Seine Ergebnisse lassen einen entscheidenden Einfluß der proteolytischen Aktivität auf die Gewebestruktur und das Wachstum von Tumoren erkennen. In hochdifferenzierten Geschwülsten fand er eine auffallende Proteolyse, während weitgehend entdifferenzierte nur geringe oder keine Aktivität aufweisen, dafür aber infiltratives Wachstum zeigten. Erstere wuchsen dagegen nur expansiv. Das veranlaßte SANTESSON zu der Annahme, daß "the process of tumor formation by epithelial cells is connected with a decrease in the proteolytic

ability of these cells, this decrease being progressive and closely associated with the progressive decrease in degree of tumor differentiation and with progressive increase in the property of infiltrative growth".

Im normalen Mäusegewebe fand der Autor eine sehr unterschiedliche, gegenüber den adenomatösen Tumoren jedoch verstärkte proteolytische Aktivität.

TAGNON (45) berichtet 1953 über eine gesteigerte Fibrinolyse im Blut von Patienten mit Prostatakarzinom.

In Untersuchungen an Mäusetumoren weisen SYLVÉN und Mitarbeiter (40, 41, 42) auf unterschiedliche proteolytische Aktivitäten in den verschiedenen Tumorbereichen hin. In den invasiven peripheren Zonen fanden sie eine erhöhte "dipeptidase" und "cathepsin activity" vor, während nekrotische und zentrale Bezirke niedrige bis normale Aktivitäten aufwiesen. Die "trypsin activities" der Tumorextrakte waren vernachlässigbar klein. In zellfreier interstitieller Tumorflüssigkeit - welche reichlich in der Peripherie schnell und invasiv wachsender Tumoren vorhanden ist - fanden sie eine höhere proteolytische Aktivität als in normalen Geweben. Die Interzellularflüssigkeit bei Mammakarzinomen zeigte eine stark erhöhte "dipeptidase activity". Die Aktivitätszunahme führen die Autoren auf einen vermehrten Enzymgehalt und/oder Änderungen des Aktivator-Inhibitor-Gleichgewichtes zurück.

1955 berichten CLIFFTON und GROSSI (6) über die fibrinolytische Aktivität gut- und bösartiger Tumoren. Im normalen Brustgewebe fanden sie eine spontane fibrino-proteolytische Aktivität.

Die meisten Mamma-Karzinome zeigten keine spontane Aktivität, enthielten jedoch einen Plasminogen-Aktivator. Dieser Befund traf auch für alle untersuchten Adeno-Karzinome zu. Im Gegensatz dazu zeigten Sarkome neben dem Vorhandensein eines Aktivators eine große spontane lytische Aktivität.

Die Autoren stellten auch fest, daß schnell wachsende und metastasierende Tumoren aktive Enzyme und Aktivatoren enthalten, während langsam wachsende eventuell einen Aktivator, aber kein aktives proteolytisches Enzym enthalten. Schließlich fanden sie noch eine Übereinstimmung der Aktivität von Metastasen mit der der Primärtumoren.

SCHMIDT-MATTHIESEN (37) konnte in Corpus-Karzinomen eine zumeist starke fibrino-proteolytische Aktivität nachweisen. Beim Collum-Karzinom berichtet er über eine Abhängigkeit der gewebungsgebundenen Aktivität von geweblichen Besonderheiten wie Vitalitätsgrad und Invasionsart des jeweiligen Karzinoms. Im verhornenden, degenerierten und zerfallenen Karzinom fand er keine fibrinolytische Aktivität. Er vermutet, daß die fibrinolytische Aktivität ein Teil der allgemeinen proteolytischen Destruktionskraft der Karzinome ist.

B. Die Gewebsfibrinolyse

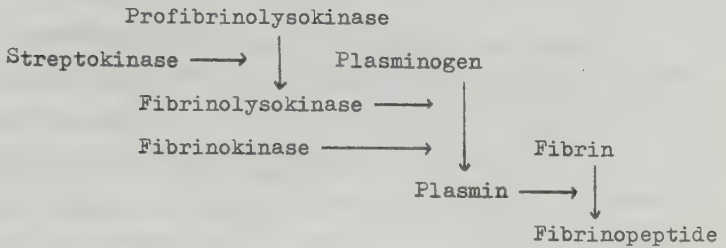
Bedeutende Impulse für die Erforschung der Gewebsfibrinolyse waren von ASTRUP und Mitarbeitern (2, 3, 5) ausgegangen. Sie erkannten die Aktivatoren (Fibrinokinasen) als die entscheidenden Wirkstoffe im Gewebe und wiesen auf eine unterschiedliche Aktivatorkonzentration in Leber, Milz, Gehirn, Lymphknoten, Prostata und Lunge hin.

PERMIN (28) fand Fibrinokinasen in tierischen Hers-, Lungen- und Muskelgeweben, KAULLA, SCHETTLES (16), FERGUSON und LEWIS (8) in Ovar und Tube. Ausführlich wurden Endometrium und Myometrium untersucht (3, 7, 9, 21, 35).

Diese Arbeiten führten nicht zuletzt zu den heutigen Kenntnissen vom Ablauf der Fibrinolyse.

Das komplette fibrinolytische System im Blut besteht aus verschiedenen Aktivatorstufen (s. Schema S. 9). Der Abbau des Fibrins in Fibrinopeptide erfolgt durch Plasmin (Fibrinolysin), das aus seiner inaktiven Vorstufe (Plasminogen) durch die Einwirkung von Fibrinolysokinasen (Aktivatoren) in die aktive Form übergeführt wird. Die Fibrinolysokinasen können wiederum in einer inaktiven Vorstufe (Profibrinolysokinasen) vorhanden sein (44), deren Aktivierung am stärksten durch Streptokinasen erfolgt. Im Gegensatz zur intravasalen Fibrinolyse wird das Vorkommen eines gewebsgebundenen Proaktivators von verschiedenen Autoren noch bezweifelt (39).

Vereinfachtes Schema der Fibrinolyse:



Bei der Bestimmung der fibrinolytischen Aktivitäten ist zu berücksichtigen, daß die Fibrinolyse sowohl über das spezifische fibrinolytische System als auch durch eine unspezifische Proteolyse zustande kommen kann (11, 26, 37, 43). Neben den plasmatischen und zellulären Fibrinolysekinasen können unspezifische Proteasen (Trypsin), bakterielle Proteasen und auch Fettlösungsmittel (Chloroform) eine Aktivierung des Plasminogens zum Plasmin bewirken. Diese Aktivierung kann auch durch Autokatalyse erfolgen.

Schließlich sind im Reaktionsablauf noch plasmatische und gewebliche Inhibitoren (Antifibrinolysine, Antifibrinolysekinasen) zu berücksichtigen, wobei mit den zur Zeit zur Verfügung stehenden Untersuchungsmöglichkeiten über die Wechselwirkung Aktivator - Inhibitor keine definitiven Aussagen gemacht werden können (13, 31, 39).

C. Zielsetzung der Arbeit

Durch die früheren Untersuchungen SANTESSONs (33, 34) an tierischen Mammatumoren sahen wir uns veranlaßt, die erarbeiteten Zusammenhänge zwischen Tumorstadium und fibrinolytischen Vorgängen unter Berücksichtigung der heutigen Kenntnisse vom Ablauf der Gewebsfibrinolyse zu überprüfen.

Insbesondere stellten sich uns dabei folgende Fragen:

1. Bestehen zwischen gut- und bösartigen Geschwülsten der weiblichen Brustdrüse Unterschiede in
 - a) der spontanen lytischen Aktivität,
 - b) dem zellulären Aktivatorgehalt,
 - c) dem Proaktivatorgehalt ?
2. Lassen die Mamma-Karzinome in Abhängigkeit von ihrer Wuchsform unterschiedliche fibrinolytische Aktivitäten erkennen ?
3. Stellen die gutartigen Mamma-Tumoren hinsichtlich ihres proteolytischen Verhaltens eine einheitliche Gruppe dar, oder bestehen gewisse Beziehungen zwischen proteolytischem Verhalten und geweblichen Eigenarten ?

II. M a t e r i a l

Zur Untersuchung gelangten Gewebeproben aus 104 Mammatumoren (s. Tab. I, II). Die histologische Beurteilung und Klassifizierung der Präparate erfolgte im Labor unserer Klinik (20) unter Berücksichtigung der Vorschläge der Weltgesundheitsorganisation (47). Den Karzinomen wurden die gutartigen Geschwülste gegenübergestellt, von denen der Formenkreis der Mastopathie abgegrenzt wurde.

Die Karzinome teilten wir entsprechend ihrer Wuchsform ein in Carzinoma medullare, simplex und szirrhosum. Diese Einteilung berücksichtigt das Verhältnis Parenchym / Mesenchym im Tumor, wobei im Carcinoma medullare der zelluläre Anteil den bindegewebigen überwiegt, während im Carcinoma szirrhosum die Relation gerade umgekehrt ist.

Im Carcinoma simplex sind der zelluläre und der bindegewebige Anteil etwa gleich groß (1, 32).

Das Gallertkarzinom bildet eine Gruppe für sich.

Nach ihrem Differenzierungsgrad unterteilten wir die Karzinome in adenomatöse und solide (entdifferenzierte).

Entsprechend einem Vorschlag von Gershon-Cohen und Schorr (10) haben wir die bindegewebsreichen Brustkrebse (Carcinoma simplex und szirrhosum) - also die Karzinome mit ausgeprägter produktiver Fibrose - unter dem Überbegriff des "Szirrhus" zusammengefaßt. Dieser Gruppe stehen die binde-

gewebsarmen Brustkrebse gegenüber, die entsprechend ihrem mehr expansiv verdrängendem Wuchsverhalten als "zirkumskripte Karzinome" bezeichnet werden.

Die histologische Klassifizierung der Mastopathien erfolgte unter Berücksichtigung der einfachen und der proliferierenden Formen.

Bei den verarbeiteten 104 Gewebeproben handelt es sich um 55 Malignome (Präparate Nr. 1-55), 26 Mastopathien (Nr. 68 bis 93) und 11 Fibroadenome (Nr. 94-104). In 12 Fällen haben wir neben Karzinomgewebe auch Mastopathiegewebe entnommen (Nr. 56-67; s. Tab. II).

Die 55 Malignome unterteilen sich entsprechend der histologischen Klassifizierung in Carcinoma medullare (Nr. 1 bis 10), scirrhusum (Nr. 26-44) und simplex (Nr. 11-25), wobei die Präparate 18-25 geringe szirrhöse Anteile enthielten.

Die Präparate 45 bis 50 faßten wir zur Gruppe der Gallertkarzinome zusammen; Nr. 49 und 50 enthielten minimale szirrhöse Anteile.

Als Sondergruppe betrachteten wir die Gewebeproben Nr. 53 bis 55, da ihre Trägerinnen bis zur Operation Ovulationshemmer (Nr. 53, 55) bzw. Gestakliman^{*)} (Nr. 54) einnahmen. Ebenfalls gesondert untersuchten wir die Präparate Nr. 51 und 52. Es handelte sich hierbei um ein Rezidiv eines

*) 6-Chlor-6-dehydro-17-acetoxyprogesteron Äthinylöstradiol, Butaperazindimaleinat

Cystosarkoma phylloides mit expansivem Wachstum (Nr. 51) und um eine Hautmetastase (Nr. 52, Retothelsarkom) eines vorher operierten Mammatumors.

Die Präparate Nr. 3-7, 9, 10, 13, 14, 16, 17, 21, 22, 27, 45-48 und 50 faßten wir zur Gruppe der "zirkumskripten Karzinome" zusammen und stellten ihnen die übrigen Gewebeproben als "Szirrhnen" gegenüber.

Die Gruppe der Mastopathien enthielt 13 einfache fibröse (Nr. 68-80), eine proliferierende fibröse (Nr. 81), 6 einfache zystische (Nr. 82-87) und 6 proliferierende zystische (Nr. 88-93) Formen.

III. M e t h o d i k

A. Herstellung der Gewebshomogenate

Das aus dem frischen Operationspräparat (Ablatio, Probe-exzision) gewonnene Tumorgewebe wurde halbiert und die eine Hälfte für die histologische Diagnostik verwendet. Vom anderen Teil wurde ein etwa 1 Gramm schwerer Tumorbereich exzidiert und je zur Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung und 2-molarer KSCN-Lösung (37, 39) im Verhältnis 1:10 homogenisiert und für den späteren Gebrauch bei -25°C in der Tiefkühltruhe eingefroren. Dabei erleidet das Gewebe eine so geringfügige Abnahme seiner Fermentaktivität, daß sie vernachlässigt werden kann (23).

Untersucht wurden nur Tumoren von einer Größe, die genügend Material zur histologischen Diagnostik und zur Homogenatherstellung boten sowie eine Präparatgewinnung genau aus dem Tumorgewebe zuließen. Umgebendes Fettgewebe wurde sorgfältig entfernt. Bluthaltiges Gewebe gelangte nicht zur Verarbeitung.

Zum Zerkleinern des Gewebes benutzten wir einen hochtourigen Homogenisator^{*)}. Bei 20.000 U/min erfolgte die Verarbeitung des Gewebes je nach Konsistenz in durchschnittlich drei Minuten.

^{*)} Ultra-Turrax-homogenisator der Firma Janke & Kunkel AG (Stauffen/Breisgau).

Durch Kühlung mit Eiswasser vermieden wir eine zu starke Erwärmung des Homogenats.

B. Geräte

Zur Verwendung kamen außer Glasgefäßen, Reagenzgläsern und Pipetten die in der Bakteriologie gebräuchlichen Petrischalen ($\varnothing$ 10 cm).

Um eine gleichmäßige Fibrinfilmstärke zu gewährleisten, hatten alle Petrischalen einen planparallelen Boden und waren gleich groß.

Die Geräte waren sorgfältig gesäubert und sterilisiert, damit eine Verfälschung der Ergebnisse vor allem durch Thrombinreste und bakterielle Proteasen ausgeschlossen war (15).

C. Herstellung der Rinderfibrinplatten

(Eigenmodifikation der Methode nach
ASTRUP und MULLERTZ) (4, 50)

Zur Herstellung der Fibrinplatten verwendeten wir Fibrinogen vom Rind (RHP 42) und aus Rinderplasma gewonnenes Thrombin *).

Den Inhalt eines Röhrchens Rinderfibrinogen (60 mg) lösten wir in 25 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung. Da sich das Fibrinogen spontan schlecht löste, stellten wir den Lösungsansatz in ein Wasserbad von 37°C und erreichten somit eine Spontanquellung und vollständige Auflösung des Rinderfibrinogens.

Zwei Ampullen Test-Thrombin (je 60 NIH-Einheiten) lösten wir in 12 ml einer 0,2-m-CaCl₂-Lösung.

Beide Lösungsansätze bewahrten wir bis zur Verwendung am gleichen Tage im Kühlschrank bei +4°C auf.

Die verwendeten Petrischalen und Reagenzgläser kühlten wir im Kühlschrank vor. Dann pipettierten wir jeweils 2 ml Thrombinlösung (= 20 NIH - E) und 4 ml Fibrinogenlösung in ein Reagenzglas, schwenkten es kurz und verteilten die Mischung möglichst ohne Luftblasenbildung in einer Petrischale. Diese muß bis zur Festigung des Fibrinfilms auf einer ebenen Unterlage stehen, damit eine gleichmäßige

*) Test-Thrombin der Behringwerke AG

Filmstärke gewährleistet wird.

Nach frühestens 15 Minuten beimpften wir die Fibrinplatten mit den Testansätzen.

Parallelversuche ergaben, daß die Platten bis zu drei Tagen bei $+4^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt werden konnten, ohne daß ein Empfindlichkeitsverlust des Fibrinfilms festgestellt werden konnte.

Wir beimpften die Platten jedoch spätestens einen Tag nach ihrer Herstellung, um einer bakteriellen Verunreinigung vorzubeugen.

D. Hitzeplatte

Da es bis heute noch nicht gelungen ist, profibrinolysin-freies Fibrinogen herzustellen, enthalten die Fibrinplatten auch Profibrinolysin (Plasminogen). Deshalb kann es auf den Standard-Platten auf zweierlei Weise zu einer Lyse kommen, und zwar wenn

- a) in der zu testenden Substanz ein aktives fibrinolytisches Ferment vorhanden ist und/oder
- b) in der zu testenden Substanz ein Aktivator vorhanden ist, der eine Aktivierung des Plattenplasminogens zu Plasmin (Fibrinolysin) bewirkt,

welches dann das Substratfibrin lysiert.

Nach LASSEN (22) ist eine Differenzierung dieser Möglichkeiten mit der Hitzeplatte gegeben.

Durch Erhitzen auf 85°C während 30 Minuten erhält man eine Inaktivierung des Plattenplasminogens. Die Fibrinstruktur soll dabei nicht beeinflußt werden. Nach STAMM (39) soll dagegen wegen Hitzedenaturierung des Fibrins ein Empfindlichkeitsverlust bis zu 90 % gegenüber dem Plasminabbau auftreten.

Dieser Arbeit vorangehende, von unserem Labor durchgeführte Untersuchungen an Mammageweben zeigten auf der Hitzeplatte keine Lysis.

Folglich kann man annehmen, daß

- a) die Testlösungen kein fibrinolytisch aktives Ferment enthalten und/oder
- b) eine Denaturierung des Fibrins eingetreten war.

Da man über Versuche mit der Hitzeplatte nur spekulative Aussagen machen kann und die Vorversuche keinerlei Lyse auf den Hitzeplatten gezeigt hatten, verzichteten wir auf diese Methode.

E. Testansätze

Zur Verarbeitung gelangten folgende Testansätze:

1. Nativextrakt 1 : 10 (N 1 : 10):

darunter verstehen wir das mit physiologischer Kochsalzlösung im Gewichtsverhältnis 1 : 10 homogenisierte Gewebe.

2. Nativextrakt 1 : 20 (N 1 : 20):

darunter verstehen wir das mit physiologischer Kochsalzlösung im Gewichtsverhältnis 1 : 20 homogenisierte Gewebe.

Die Ansätze 1. und 2. geben uns einen Überblick über die spontane fibrinolytische Aktivität in verschiedenen Verdünnungsstufen.

3. Nativextrakt 1 : 10 + 50 E Streptase (= Nichtkorrigierter Proaktivatorgehalt):

hierbei wurde 0,1 ml des Ansatzes 1. (N 1 : 10) mit dem gleichen Volumen Streptokinase-Streptodornase^{*)} versetzt (24). Eine Flasche Varidase enthält 20.000 E Streptokinase und 5.000 E Streptodornase. Mit physiologischer Kochsalzlösung wurde eine Varidaselösung so angesetzt, daß 0,1 ml Lösung 50 E Streptase enthielt.

Die lytische Aktivität dieses Ansatzes gibt uns ein

*) "Varidase" der Firma Lederle

Maß für den nichtkorrigierten Proaktivatorgehalt, denn zusätzlich zur streptase-induzierten Proaktivatorwirkung kommt die bereits im Nativextrakt nachweisbare Spontanlyse zum Ausdruck (korrigierter Proaktivatorgehalt s. E. 7.).

4. KSCN - Extrakt 1 : 10 (K 1 : 10)

5. KSCN - Extrakt 1 : 20 (K 1 : 20)

Dem Nativextrakt entsprechend wurde für den KSCN-Ansatz das Gewebe im Gewichtsverhältnis 1 : 10 bzw.

1 : 20 mit 2-molarer KSCN-Lösung homogenisiert.

Nach ASTRUP und ALBRECHTSEN (3) soll KSCN eine spezielle Löslichkeit für die wasserunlöslichen zellulären Fibrinolyseaktivatoren besitzen.

Von jedem der Ansätze 1 - 5 wurden jeweils 0,03 ml mittels Pipette auf die Platten getropft und 24 Stunden bei 37° C inkubiert. Um ein Ineinanderlaufen der Lysehöfe zu vermeiden, beschickten wir die Platten mit nur drei Tropfen. Als Maß für die fibrinolytische Aktivität ermittelten wir die Lysefläche als Produkt zweier senkrecht aufeinander stehender Durchmesser des Lysehofes (9).

6. Bestimmung des Gewebsproaktivators (a) und des Gewebsinhibitors (b) mit Hilfe der Seesandmethode.

Diese Methode ist eine Modifizierung der Plasminogenbestimmung nach MARBET (26) bzw. der Antifibrinolyse-

bestimmung nach BELLER und REINHARDT (39). Bei Vorhandensein eines Inhibitors erwartet man eine Verlängerung der Inhibitorzeit gegenüber der Proaktivatorzeit. Ist dies nicht der Fall, bzw. ist die Inhibitorzeit gegenüber der Proaktivatorzeit verkürzt, so kann man folgern, daß ein Inhibitor fehlt, so daß der längere Kontakt der Streptokinase mit dem Gewebsextrakt zu einer weiteren Verstärkung der Lyse führt. Ein Vergleich der Durchschnittszeiten von mehreren Gewebeproben einer Gewebeart ist ein Kriterium für die durchschnittliche Inhibitoraktivität.

(a) Bestimmung des Gewebeproaktivators:

Zur Bestimmung des Gewebeproaktivators verwendeten wir die etwas abgewandelte Reagenzglas- methode zur Plasminogenbestimmung mit bovinem Nativfibrin von MARBET (26, 51).

Prinzip: Plasminogen wird quantitativ bestimmt, indem nach Überführung in Plasmin mittels Streptokinase die fibrinolytische Aktivität durch die Geschwindigkeit des Fibrinabbaus mit Hilfe von Seesand gemessen wird.

Reagenzien: 1.000 E Streptokinase/ml
Thrombinlösung
0,6 %ige Rinderfibrinogenlösung
physiologische Kochsalzlösung
Seesand

Technik: zu 0,1 ml Gewebshomogenat gibt man 0,1 ml

Streptokinase (= 100 E) und läßt dies im Wasserbad bei 37°C genau eine Minute aufeinander einwirken. Hierbei tritt eine verstärkte fibrinolytische Aktivität durch die Streptokinasezugabe auf. Nach einer Minute verdünnt man mit 1,8 ml physiologischer Kochsalzlösung, fügt als Substrat 0,5 ml Rinderfibrinogenlösung zu und fällen das Gerinnsel mit 0,2 ml Thrombinlösung. Stoppuhr sofort in Gang setzen. Man läßt das Gerinnsel eine Minute bei Zimmertemperatur stehen und gibt es dann für eine Minute in ein Wasserbad von 37°C. Nach diesen zwei Minuten fügt man ca. 80 mg Seesand hinzu. Sobald der Seesand den Reagenzglasboden berührt, wird die Uhr gestoppt. Die gestoppte Zeit gilt als Maß (in Sekunden) des Gewebeaktivators.

(b) Bestimmung des Gewebeinhibitors:

Der Inhibitorbestimmung liegt das gleiche Prinzip wie der Bestimmung der Proaktivatorzeit zu Grunde, nur kann nach dem Streptokinasezusatz durch die längere Verweildauer (30 Minuten) des Homogenats im Wasserbad der im Gewebe enthaltene Inhibitor wirksam werden.

Technik: 0,1 ml Streptokinase läßt man genau 30 Minuten auf 0,1 ml Gewebshomogenat im Wasserbad einwirken. Die weitere Verarbeitung erfolgt dann wie bei der Bestimmung des Gewebeproaktivators.

Die Angabe der Proaktivator- und Inhibitorzeiten erfolgt in Sekunden.

7. Errechnung des korrigierten Proaktivatorgehaltes:

Den korrigierten Proaktivatorgehalt bestimmten wir aus der Differenz der Testansätze 3 - 2 (= Differenz Streptase-aktiviertes und nicht aktiviertes Homogenat der entsprechenden Verdünnungsstufe).

Zu dieser Subtraktion fühlten wir uns berechtigt, weil die lytische Aktivität des "Streptase-Ansatzes" (Testansatz 3) die additive Steigerung der bereits im Nativextrakt nachweisbaren Spontanlyse um den durch Streptase aktivierbaren Proaktivatoranteil darstellt.

Um ein Vorhandensein von Proaktivator in der Fibrinplatte auszuschließen, testeten wir diese bei jeder Versuchsdurchführung mit 0,03 ml der angesetzten Varidase-Lösung unter den gleichen Bedingungen wie die mit Gewebshomogenat beschickten Platten.

Dabei fanden wir zwar eine Lyse auf den Fibrinplatten, diese war aber so minimal, daß wir sie für unsere Versuche vernachlässigen konnten.

Leerversuche mit physiologischer Kochsalzlösung und 2-m-KSCN ergaben keine Lyse.

8. Um ein relatives Maß für den zellulären Aktivatoranteil zu erhalten, errechneten wir die Differenz aus

- a) KSCN-Extrakt 1:10 - Nativextrakt 1:10
- b) KSCN-Extrakt 1:20 - Nativextrakt 1:20

Theoretisch besteht die Möglichkeit, daß der im Nativ-

extrakt wirksame Aktivator nicht der eigentliche zelluläre Aktivator ist, sondern aus dem Interstitium stammen könnte. Daher haben wir zur Bestimmung des reinen zellulären Aktivators die Aktivität des Nativextraktes von der des KSCN-Extraktes in Abzug gebracht in der Vorstellung, daß die im Nativextrakt nachgewiesene lytische Aktivität auch im KSCN-Extrakt zur Wirkung kommt, was aber nicht mit Sicherheit zu beweisen ist.

F. Statistische Berechnung

Zum statistischen Vergleich unserer Ergebnisse verwendeten wir den Student-t-Signifikanztest (12).

Folgende Formeln kamen dabei zur Anwendung:

$$\text{Mittelwert:} \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

$$\text{Standardabweichung:} \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}$$

$$\text{Signifikanztest:} \quad t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s_d} \cdot \sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2}{n_1 + n_2}}$$

$$s_d = \sqrt{\frac{s_1^2(n_1-1) + s_2^2(n_2-1)}{n_1 + n_2 - 2}}$$

t = Testgröße

s_d = gemeinsame Varianz der Stichprobenstreuung

n = Anzahl der Einzelwerte

Die Berechnung erfolgte mit einem automatischen Tischrechner^{*)}.

*) "Olivetti" der Firma Olivetti/Berlin

IV. E r g e b n i s s e

A. Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome, Mastopathien und Fibroadenome

1. Die Berechnung der Mittelwerte der spontanen lytischen Aktivität von 50 Karzinomen, 26 Mastopathien und 11 Fibroadenomen ergab nur minimale Unterschiede. Die Werte für den Nativansatz 1:10 (N 1:10) liegen im Bereich von 280 mm^2 , für den Ansatz N 1:20 im Bereich von 200 mm^2 (s. Tab. III, Abb.1).

Die Übereinstimmung der Mittelwerte in beiden Ansätzen läßt einen Unterschied zwischen malignen und benignen Tumoren hinsichtlich ihrer spontanen lytischen Aktivität nicht erkennen.

2. Dagegen erhielten wir bei der Bestimmung des mit Streptase aktivierbaren Proaktivators (nichtkorrigierter Proaktivator) unterschiedliche Werte. In diesem Ansatz betragen die Mittelwerte für die Karzinomgruppe 485, für die Mastopathien 551 und für die Fibroadenome 573 mm^2 (s. Tab. III, Abb.2).

Die Berechnung des korrigierten Proaktivatorgehaltes aus der Differenz der Testansätze 3 - 2 ergab für die Karzinome 285, für die Mastopathien 356 und für die Fibroadenome 369 mm^2 (s. Abb.2).

Dieser Unterschied der Karzinomwerte gegenüber denen der Mastopathien und Fibroadenome ist aber nicht signifikant (s. Tab. IV).

3. Deutlicher sind die Unterschiede in den KSCN-Ansätzen. Im Testansatz 4 (K 1:10) liegt der Mittelwert für die Karzinomgruppe bei 578, für die Mastopathien bei 472 und für die Fibroadenome bei 503 mm^2 , bzw. bei 468, 357 und 391 mm^2 im Ansatz 5 (K 1:20) (s. Tab. III, Abb. 3a).

Der statistische Vergleich der Karzinom- und Fibroadenomwerte ergab in beiden Verdünnungsstufen keine signifikanten Unterschiede. Gegenüber den Mastopathien besitzen die Karzinome jedoch einen deutlich erhöhten zellulären Aktivatorgehalt (s. Tab. IV).

Diese Ergebnisse finden eine Bestätigung in der Berechnung des zellulären Aktivatoranteils (s. III.E.8) aus der Differenz der Ansätze K 1:10 und N 1:10, bzw. K 1:20 und N 1:20 (s. Abb. 3b, Tab. III). Beim Vergleich Karzinom / Mastopathien erhalten wir

$$t = 3,64 \text{ für den Ansatz K 1:10 - N 1:10} \quad \text{und}$$

$$t = 3,42 \text{ für den Ansatz K 1:20 - N 1:20.}$$

Die Mittelwerte von Karzinom und Fibroadenom lassen keinen eindeutigen Unterschied erkennen:

$$t = 1,54 \text{ für K 1:10 - N 1:10} \quad \text{und}$$

$$t = 1,72 \text{ für K 1:20 - N 1:20.}$$

4. Die Bestimmung des mit Hilfe der Seesandmethode (s. S. 20 ff.) gemessenen Gewebeproaktivators und -inhibitors von 43 Karzinomen, 10 Fibroadenomen und 25 Mastopathien ergab sichtlich differierende Werte. Die mittleren Proaktivatorzeiten liegen für das Karzinom bei 907, für das Fibroadenom bei 650 und für die Mastopathie bei 658 Sekunden.

Als mittlere Inhibitorzeit erhielten wir für das Karzinom 887, für das Fibroadenom 698 und für die Mastopathie 684 Sekunden (s. Tab. III).

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % ist der Unterschied der Proaktivatorzeiten der Karzinome gegenüber denen der Mastopathien und Fibroadenome signifikant (s. Tab. IV).

Die Inhibitorzeit des Karzinoms ist gegenüber der der Mastopathie ebenfalls mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,1 % und gegenüber der des Fibroadenoms mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % signifikant verlängert (s. Tab. IV).

Auffallend ist die gegenüber der mittleren Proaktivatorzeit verkürzte Inhibitorzeit des Karzinoms, während bei der Mastopathie und dem Fibroadenom jeweils die mittlere Inhibitorzeit länger ist als die Proaktivatorzeit (s. Abb. 4). Das bedeutet, daß im Karzinomgewebe im Gegensatz zum Mastopathie- und Fibroadenomgewebe kein In-

hibitor nachweisbar ist (s. Erklärung zu III.E.6a).

Bei den Karzinomen fand sich unter 43 Wertepaaren 21-mal eine längere und 16-mal eine kürzere Proaktivator- als Inhibitorzeit, sechsmal stimmten beide Zeiten überein. Das bedeutet, daß in 16 Fällen ein Inhibitor vorhanden war.

In der Gruppe der Mastopathien war in neun Fällen die Proaktivatorzeit länger und in fünfzehn Fällen kürzer als die Inhibitorzeit. In einem Fall stimmten beide Zeiten überein.

Bei den Fibroadenomen war in drei Fällen die Proaktivatorzeit länger und in sieben Fällen kürzer als die Inhibitorzeit.

B. Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome

1. Die Mittelwerte der hinsichtlich ihrer Wuchsform unterteilten Karzinome lassen im Testansatz N 1:10 eine von 167 für die medullären, über 253 für die simplen, bis 334 mm^2 für die szirrhösen Karzinome ansteigende spontane lytische Aktivität erkennen. Entsprechend ist auch im Ansatz N 1:20 ein Anstieg von 106 über 186 bis 250 mm^2 zu verzeichnen (s. Tab. V, Abb. 5).

Die Gruppe der Gallert-Karzinome weist mit 351 bzw. 233 mm^2 eine den szirrhösen Karzinomen entsprechende Spontanaktivität auf, die erhaltenen Einzelwerte differieren jedoch erheblich (s. Tab. II). Ein statistischer Vergleich mit den anderen Karzinomgruppen ist auf Grund der geringen Anzahl der Gallert-Karzinome nicht möglich.

Der statistische Vergleich von medullären mit szirrhösen Karzinomen ergibt in beiden Ansätzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % eine signifikant höhere spontane Aktivität der szirrhösen Karzinome:

t = 2,87 für den Ansatz N 1:10,

t = 2,79 für den Ansatz N 1:20.

Die Differenzen der Mittelwerte von medullären und simplen, bzw. simplen und szirrhösen Karzinomen erweisen sich dagegen als nicht signifikant.

t - Werte:

$t_1 = 1,65$; $t_2 = 1,77$ für den Vergleich der medullären Karzinome mit den simplen im Ansatz N 1:10 bzw. N 1:20 und

$t_1 = 1,70$; $t_2 = 1,50$ für den Vergleich der simplen und szirrhösen Karzinome.

Eine Unterteilung der Gruppe der simplen Karzinome ergibt für diejenigen mit szirrhösen Anteilen Mittelwerte von 290 (N 1:10) bzw. 226 mm² (N 1:20) und somit eine Annäherung an den Mittelwert der szirrhösen Gruppe.

Mit 210 bzw. 140 mm² nähert sich die mittlere Aktivität der einfachen Karzinome ohne szirrhöse Anteile der der medullären Karzinome.

2. Die im mit Streptase aktivierten Testansatz (= nicht-korrigierter Proaktivator) erhaltenen Werte ergeben eine mittlere Aktivität von 441 für die medullären, von 506 für die simplen, von 474 für die szirrhösen und von 540 mm² für die Gallert-Karzinome. Daraus errechnet sich ein korrigierter Proaktivatorgehalt für die medullären Karzinome von 337, die simplen von 320, die szirrhösen von 223 und die Gallert-Karzinome von 306 mm² (s. Tab. V, Abb. 6).

Eine Unterteilung der Gruppe der Carcinoma simplex er-

gab für die Karzinome ohne szirrhöse Anteile einen dem Proaktivatorgehalt der medullären Karzinome entsprechenden wert von 348 mm^2 und für die Karzinome mit szirrhösen Anteilen einen Wert von 294 mm^2 .

Der statistische Vergleich des korrigierten Proaktivatorgehaltes der einzelnen Karzinomgruppen ergab keine eindeutigen Unterschiede:

$$\begin{aligned} t &= 2,01 && \text{für den Vergleich medulläres /} \\ &&& \text{szirrhöses Karzinom;} \\ &&& \text{Signifikanzschränke } t_{0,05}(f) = 2,052; \\ t &= 1,97 && \text{für den Vergleich simples /} \\ &&& \text{szirrhöses Karzinom;} \\ &&& \text{Signifikanzschränke } t_{0,05}(f) = 2,04. \end{aligned}$$

3. Die aus den Testansätzen 4 und 5 (K 1:10 und K 1:20) erhaltenen Mittelwerte für den zellulären Aktivatorgehalt (s. Tab. V, Abb. 7a) zeigen keine wesentlichen Unterschiede zwischen den einzelnen Karzinom-Gruppen. Lediglich der wert für die Gruppe der Gallert-Karzinome scheint mit 661 bzw. 523 mm^2 gegenüber $517 (412) \text{ mm}^2$ für medulläre, $568 (468) \text{ mm}^2$ für simple und $593 (481) \text{ mm}^2$ für szirrhöse Karzinome auf eine höhere Aktivität schließen zu lassen.

Die Schwankungsbreite der Einzelwerte der Gallert-Karzinome ist jedoch erheblich (s. Standardabweichung, Tab. V).

Der Vergleich der medullären mit den szirrhösen Karzinomen ergibt für

K 1:10 - t = 0,90 und für

K 1:20 - t = 0,95.

Die errechneten Werte für den zellulären Aktivatorgehalt (s. Tab. V, Abb. 7b) lassen eine weitgehende Übereinstimmung der medullären, simplen und gelatinösen Karzinome erkennen mit einem Aktivatorgehalt von etwa 300 mm^2 . Der Aktivatorgehalt der szirrhösen Karzinome erscheint mit 258 mm^2 (K 1:10 - N 1:10) bzw. 233 mm^2 (K 1:20 - N 1:20) erniedrigt, ein signifikanter Unterschied besteht jedoch nicht.

Die Signifikanzbestimmung ergab t-Werte zwischen $t = 0,3$ für den Vergleich medulläre / simple Karzinome und $t = 1,6$ für den Vergleich medulläre / szirrhöse Karzinome.

4. Hinsichtlich der mit der Seesandmethode gemessenen Proaktivator- und Inhibitorzeiten unterscheiden sich die einzelnen Karzinomgruppen ebenfalls wenig. Die längsten Zeiten wurden mit 954 Sekunden für die Proaktivator- und 992 Sekunden für die Inhibitorzeit der Gallert-Karzinome gemessen. Die Proaktivatorzeiten der medullären, simplen und szirrhösen Karzinome lagen bei 875, 912 und 901 Sekunden, die Inhibitorzeiten bei 861, 911 und 844 Sekunden (s. Tab. V, Abb. 8).

Die statistische Berechnung ergab t-Werte zwischen $t = 0,15$ und $t = 0,38$ für die Proaktivatorzeiten und zwischen $t = 0,21$ und $t = 1,06$ für die Inhibitorzeiten.

Auffällig ist bei den medullären und szirrhösen Karzinomen die im Vergleich zur mittleren Proaktivatorzeit kürzere Inhibitorzeit.

Beim Carcinoma simplex sind beide Zeiten annähernd gleich lang, während die Gruppe der Gallert-Karzinome eine längere Inhibitor- als Proaktivatorzeit aufweist (s. Abb. 8).

Das bedeutet, daß nur bei den Gallert-Karzinomen ein Inhibitor vorhanden ist.

C. Die lytische Aktivität der "Szirrhen" und der vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinome

Der Vergleich zwischen den "Szirrhen" und den vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinomen läßt für die spontane lytische Aktivität keinen wesentlichen Unterschied erkennen. Der Mittelwert der "Szirrhen" ist zwar mit 303 mm^2 größer als der der zirkumskripten Karzinome (238 mm^2), der Unterschied ist jedoch nicht signifikant ($t = 1,29$).

Hinsichtlich des zellulären Aktivatoranteils ist die Differenz beider Gruppen noch geringer. Für die "Szirrhen" errechnete sich ein Aktivatorgehalt von 291 mm^2 und für die zirkumskripten Krebse von 313 mm^2 (s. Tab. VI).

Die Bestimmung des korrigierten Proaktivatorgehaltes ergibt für die "Szirrhen" einen Mittelwert von 235 mm^2 und für die zirkumskripten Karzinome einen von 366 mm^2 .

Der statistische Vergleich zeigt mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 1 % einen signifikant höheren Proaktivatorgehalt der zirkumskripten Karzinome (s. Tab. VI).

Die mittleren Proaktivator- und Inhibitorzeiten beider Gruppen differieren nur geringfügig (s. Tab. VI). Auffällig ist die höhere Proaktivator- als Inhibitorzeit der "Szirrhen", während die zirkumskripten Krebse eine höhere Inhibitor- als Proaktivatorzeit aufweisen. Das bedeutet, daß bei den zirkumskripten Karzinomen ein Inhibitor vorhanden ist, während er bei den "Szirrhen" fehlt.

D. Die fibrinolytische Aktivität der Mastopathien

1. Die nach ihrem Proliferationsgrad unterteilten Mastopathien zeigen im Nativansatz 1:10 für die einfache Mastopathie eine mittlere spontane lytische Aktivität von 268 mm^2 , für die proliferierende Mastopathie von 360 mm^2 (s. Tab. VII).

Im Ansatz N 1:20 zeigt sich ein entsprechender Unterschied mit 167 mm^2 für die einfache und 255 mm^2 für die proliferierende Mastopathie.

Der Student-t-Test ergibt für den Testansatz N 1:20 einen t-Wert von 2,33 und somit bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % eine signifikant höhere Aktivität der proliferierenden Mastopathie. Für den Ansatz N 1:10 errechnet sich ein t-Wert von 2,00. Dieser Wert liegt zwar noch innerhalb der Signifikanzschränken ($t_{0,05}(f) = 2,06$), dürfte aber bei umfangreicheren Testgruppen entsprechend Ansatz N 1:20 eine Signifikanz erwarten lassen.

2. Der gegenüber der proliferierenden Mastopathie (228 mm^2) höhere korrigierte Proaktivatoranteil der einfachen Mastopathie (403 mm^2) erweist sich im statistischen Vergleich als nicht signifikant erhöht. Der t-Wert liegt mit 2,01 noch innerhalb der Signifikanzschränken.
3. In ihrem Gehalt an zellulärem Aktivator unterscheiden

sich die beiden Gruppen nur unwesentlich. Die Mittelwerte für den errechneten Aktivatorgehalt liegen im Bereich von 170 mm^2 (s. Tab. VII).

4. Der Vergleich der Proaktivator- und Inhibitorzeiten zeigt ebenfalls nur minimale, statistisch nicht gesicherte Unterschiede. Die Proaktivatorzeiten liegen im Bereich von 660 Sekunden, die Inhibitorzeiten bei 680 Sekunden.

In beiden Gruppen sind die mittleren Inhibitorzeiten länger als die Proaktivatorzeiten (s. Tab. VII). Das bedeutet, daß in beiden Gruppen ein Inhibitor vorhanden ist.

E. Der Aktivatorgehalt des neben Karzinomgewebe entnommenen Mastopathiegewebes

Der Vergleich der erhaltenen Mittelwerte dieser Gruppe mit denen der Mastopathien (Präparat-Nr. 68-93) zeigt eine weitgehende Übereinstimmung der spontanen lytischen Aktivität, des Proaktivator- und des zellulären Aktivatorgehaltes (s. Tab. VIII).

Der Vergleich der Proaktivator- und Inhibitorzeiten zeigt, daß dem neben Karzinomgewebe entnommenen Mastopathiegewebe ein Inhibitor fehlt, während er in der Mastopathiengruppe vorhanden ist, wie die gegenüber der Proaktivatorzeit längere Inhibitorzeit erkennen läßt.

Vergleichende Aussagen über den Aktivatorgehalt der ein Karzinom begleitenden Mastopathie und des jeweils entsprechenden Karzinomgewebes sind auf Grund der geringen Anzahl der Materialproben und der Vielfalt der histologischen Erscheinungsformen nicht möglich.

F. Sondergruppe (Tumor Nr. 51-55)

Das Cystosarkoma phylloides und das Retothelsarkom zeigen eine übereinstimmende minimale bzw. fehlende spontane lytische Aktivität.

Der zelluläre Aktivatorgehalt ist ebenfalls sehr gering. Dagegen zeigen beide einen relativ hohen Proaktivatorgehalt. Die Proaktivator- und Inhibitorzeiten des Cystosarkoma gehören mit zu den kürzesten der im Verlauf der Untersuchung gemessenen Zeiten.

Die Zeiten des Retothelsarkoms entsprechen etwa denen der benignen Tumoren (s. Tab. II).

Die Karzinome Nr. 53 und 54, deren Trägerinnen zur Zeit der Tumorexstirpation unter dem Einfluß von Ovulationshemmern (Nr. 53) bzw. Gestakliman (Nr. 54) standen, zeigen keine spontane fibrinolytische Aktivität und einen nur geringen zellulären Aktivatorgehalt, während der Proaktivatorgehalt relativ hoch erscheint.

In den Proaktivator- und Inhibitorzeiten differieren beide Präparate erheblich, die Inhibitorzeit ist jedoch in beiden Fällen kürzer als die Proaktivatorzeit.

Das Karzinom Nr. 55, das vier Tage nach Absetzen eines Ovulationshemmers exstirpiert wurde, zeigt dagegen eine relativ hohe spontane lytische Aktivität. Der zelluläre Aktivatorgehalt ist ebenfalls nur gering. Die Inhibitor-

zeit ist kürzer als die $T_{\text{roaktivatorzeit}}$ (s. Tab. II).

Statistisch gesicherte Aussagen über die Malignome dieser Gruppe sind auf Grund der geringen Materialbreite natürlich nicht möglich, so daß auch übereinstimmende Aktivitäten der einzelnen Präparate entsprechend kritisch betrachtet werden müssen.

V. B e s p r e c h u n g

Die Bestimmung der spontanen lytischen Aktivität gut- und bösartiger Geschwülste ergab weitgehend übereinstimmende Werte. Im Testansatz N 1:10 liegen die mittleren Spontanaktivitäten der untersuchten Gruppen bei 280 mm^2 , im Ansatz N 1:20 bei 200 mm^2 .

Mit diesen Ergebnissen können wir die Feststellung von KREBS (19) und KLEINMANN (17) bestätigen, daß maligne Tumoren sich hinsichtlich ihrer proteolytischen Spontanaktivität nicht von den benignen unterscheiden. Im Gegensatz dazu steht die Aussage von CLIFFTON und GROSSI (6), die im normalen Mammagewebe eine spontane lytische Aktivität fanden, im Karzinom jedoch nicht.

Gewisse, statistisch aber nicht gesicherte Unterschiede fanden wir bei der Bestimmung des Proaktivatorgehaltes, der mit 285 mm^2 für die Karzinomgruppe unter dem der Mastopathien (356 mm^2) und der Fibroadenome (369 mm^2) lag.

Die Untersuchung des zellulären Aktivators zeigte, daß die Karzinome mit 578 mm^2 einen höheren Aktivatoranteil aufweisen als die Mastopathien (472 mm^2) und Fibroadenome (503 mm^2). Während die Differenz im Aktivatorgehalt zwischen Karzinom und Fibroadenom statistisch nicht gesichert ist, ist der Unterschied zwischen Karzinom und Mastopathie

signifikant.

Auch hinsichtlich ihres Inhibitorgehaltes besteht ein Unterschied zwischen den benignen und malignen Tumoren (s. Tab. III). Die Karzinome weisen dabei eine längere Proaktivator- als Inhibitorzeit auf und lassen somit auf einen niedrigen Proaktivatorgehalt und auf eine völlig fehlende Inhibitorwirkung schließen.

Die Unterschiede zwischen gut- und bösartigen Tumoren hinsichtlich ihrer Proaktivatorzeiten bestätigen den niedrigen, auf der Fibrinplatte gemessenen Proaktivatorgehalt des Karzinoms.

Die Interpretation der Proaktivator- und Inhibitorzeiten ist allerdings problematisch, weil es sich bei der von uns angewendeten, an die Profibrinolysinbestimmung im Plasma angelehnten Meßmethode um eine Komplexbestimmung handelt, die außer von den Fibrinolyseaktivatoren auch von den Inhibitoren und Gewebsfibrinokinasen beeinflusst werden kann. Die Gewebsfibrinokinasen sind zwar wasserunlöslich, aber es ist nicht ausgeschlossen, daß sie unter gewissen Umständen wasserlöslich werden und somit fibrinolytisch aktiv werden können (37, 39). Bei der Bestimmung der Profibrinolysinzeit des Plasmas können die Inhibitoren normalerweise vernachlässigt werden, da sie in der in wenigen Minuten ablaufenden Lysezeit keinen Einfluß auf die Fibrinolyse haben (37). Unsere gemessenen Zeiten sind jedoch relativ lang, so daß ein Einfluß nicht

ausgeschlossen werden kann.

Die Proaktivator- und Inhibitorzeiten bedürfen allerdings noch einer gesonderten Untersuchung, bevor eine endgültige Interpretation erfolgen kann.

Der Hinweis von SANTESSON, CLIFFTON, GROSS und von SCHMIDT-MATTHIESEN (6, 33, 37) auf einen Zusammenhang der proteolytischen Aktivität maligner Tumoren mit ihren histologischen Erscheinungsformen veranlaßte uns, die Gruppe der Karzinome und auch der Mastopathien nach histologischen Gesichtspunkten zu unterteilen und diese Untergruppen miteinander zu vergleichen. Die unterschiedliche proteolytische Aktivität der nach ihrer Wuchsform aufgeschlüsselten Karzinome (s. Tab. V) unterstreicht die Notwendigkeit der Unterteilung karzinomatöser Gewebe nach histologischen Gesichtspunkten.

Aber auch eine Beurteilung der proteolytischen Aktivität benigner Tumoren erfordert eine Berücksichtigung der histologischen Eigenheiten, wie die unterschiedlichen Aktivitäten der Mastopathien in Abhängigkeit von ihrem Gehalt an proliferierenden Anteilen zeigen (s. Tab. VII).

Ein Vergleich zwischen entdifferenzierten und höher differenzierten Tumoren konnte nicht angestellt werden, da es sich bei unserem Material vorwiegend um entdifferenzierte Karzinome handelt.

Minimale, statistisch nicht gesicherte Unterschiede zwi-

schen Karzinomen mit produktiver Fibrose und vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinomen fanden wir bei der Bestimmung ihrer Spontanaktivitäten und ihres zellulären Aktivatorgehaltes. Die vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinome weisen dagegen gegenüber den "Sziirhen" einen deutlich höheren Proaktivatorgehalt auf (s. Tab. VI). Auffallend ist, daß die zirkumskripten Karzinome außerdem einen Inhibitor aufweisen, während er den "Sziirhen" fehlt.

Die Feststellung SANTESSONs (33), daß eine auffallende proteolytische Aktivität mit einem expansiven Wachstum und eine niedrige Aktivität mit infiltrativem Wachstum verbunden ist, können wir in unserem Material nicht bestätigen.

Vergleiche unserer Ergebnisse mit den Untersuchungen anderer Autoren sind problematisch. Bisher liegen nur wenige Untersuchungen an menschlichem Mammagewebe vor (6, 17, 19), ausführlicher wurden induzierte, transplantierte und spontane tierische Tumoren untersucht (14, 33, 34, 40-42). Die dabei angewendeten Methoden zur Bestimmung der fibrinolytischen Aktivität sind so mannigfaltig, daß Vergleiche der Untersuchungsergebnisse sehr erschwert werden (27, 29, 30, 36, 38, 46).

Ferner beeinflußt eine Vielzahl kaum meßbarer Faktoren die fibrinolytische Aktivität wie z.B. Störungen der Östro-

gen-Gestagen-Relation (21, 37) und Änderungen des Östrogenspiegels. Hierbei sollen die Östrogene der Fibrinolyse bzw. einer Aktivierung des fibrinolytischen Potentials entgegenwirken (18, 25, 48, 49).

Auch Antikonzeptiva beeinflussen die fibrinolytische Aktivität. So berichtet SCHMIDT-MATTHIESEN (36) über eine indirekte Hemmung der gewebeständigen Fibrinolyseaktivatoren durch Ovulationshemmer.

Das fibrinolytische Verhalten unserer Präparate Nr. 53 und Nr. 54 (s. IV.F.), die keine spontane lytische Aktivität und nur einen minimalen zellulären Aktivatorgehalt aufweisen, scheint diese Feststellung zu bestätigen. Aussagen über die Abhängigkeit der lytischen Aktivität des Tumorgewebes von hormonalen Einflüssen können wir mit unserem Material nicht machen. Dies soll das Ziel einer gesonderten Arbeit sein.

Eine Veränderung der fibrinolytischen Aktivität im Blut im Sinne einer Hyperfibrinolyse findet sich außerdem bei jeglicher Art von Stress, wie körperliche Anstrengung, Infektionen, Operationen usw. (18, 27).

Auch nach Injektion von Sympathicomimetica wurde eine Steigerung der Fibrinolyse beobachtet (27).

Das Alter des Gewebes stellt einen weiteren Parameter der Fibrinolyse dar (29). Je älter das Gewebe ist, desto niedriger soll die proteolytische Aktivität sein (21).

Sauerstoffmangel und eine Änderung des pH-wertes beeinflus-

sen ebenfalls die Proteolyse (40).

Den wichtigsten Parameter aber stellt das Tumorgewebe selbst dar. Es gibt kein karzinomtypisches Enzymmuster und selbst morphologisch gleichwertige Tumorzellen können verschiedene Enzymaktivitäten aufweisen (29, 36). Außerdem finden sich in dem Tumorexzidat neben dem wachsenden Karzinomgewebe wechselnde Anteile an bindegewebigem Stroma, an ruhendem oder degenerativ verändertem und von Entzündungszellen durchsetztem Tumorgewebe, die die fibrinolytische Aktivität des Tumorhomogenats unterschiedlich beeinflussen.

So bleibt auch heute noch trotz differenzierter Untersuchungsmethoden "der organoide, multizelluläre Bau des karzinomatösen Tumors dem Biologen zur Beschreibung und Interpretation eine Goldmine, dem Biochemiker aber ein Alptraum an Komplexität" (29).

Die aufgezeigten Zusammenhänge des proteolytischen Verhaltens der Tumoren mit ihren histologischen Erscheinungsformen geben uns Veranlassung, den Problemkreis des karzinomatösen Wachstums eingehender, insbesondere im Hinblick auf eine mögliche therapeutische Beeinflußbarkeit zu untersuchen.

Es wird das Ziel einer Reihe weiterer Arbeiten sein, diese Zusammenhänge unter unterschiedlichen Voraussetzungen zu

überprüfen.

Hierbei interessiert vor allem das fibrinolytische Verhalten des Tumorgewebes in Abhängigkeit von hormonellen Einflüssen. Eine diesbezügliche Untersuchung ist bereits im Gange.

VI. Z u s a m m e n f a s s u n g

Untersucht wurde die fibrino-proteolytische Aktivität von 55 Malignomen, 26 Mastopathien und 11 Fibroadenomen mit der von uns modifizierten Fibrinplattenmethode nach ASTRUP und MÜLLERTZ (4).

Die Bestimmung der spontanen lytischen Aktivität ergab keine Unterschiede zwischen gut- und bösartigen Geschwülsten.

Hinsichtlich des Proaktivatorgehaltes ergaben sich geringfügige, statistisch nicht gesicherte Differenzen.

Das Karzinomgewebe besitzt einen signifikant höheren Gehalt an zellulärem Aktivator als das Mastopathiegewebe. Der gegenüber dem Karzinom niedrigere Aktivatorgehalt der Fibroadenome ist statistisch nicht gesichert.

Während sich bei den Mastopathien und Fibroadenomen ein Inhibitor nachweisen läßt, fehlt dieser bei den Karzinomen.

Die hinsichtlich ihrer Wuchsform unterteilten Karzinome lassen unterschiedliche Spontanaktivitäten erkennen. Szirrhöse Karzinome weisen eine signifikant höhere Aktivität auf als medulläre.

Die medullären Karzinome weisen zwar einen höheren Pro-

aktivatorgehalt auf als szirrhöse, die Differenz ist statistisch jedoch nicht gesichert.

Hinsichtlich des zellulären Aktivatorgehaltes sowie der Proaktivatorzeiten ergeben sich keine wesentlichen Unterschiede.

Die Gallert-Karzinome weisen einen Inhibitor auf, beim Carcinoma medullare, simplex und szirrhosum fehlt er.

Die Unterschiede zwischen den bindegewebsreichen "Szirrhen" und den bindegewebsarmen zirkumskripten Karzinomen hinsichtlich ihrer aktuellen lytischen Aktivität, ihres zellulären Aktivatorgehaltes, der Proaktivator- und Inhibitorzeiten sind statistisch nicht gesichert.

Die zirkumskripten Karzinome weisen einen deutlich höheren Proaktivatorgehalt auf. Außerdem besitzen sie einen Inhibitor, der den "Szirrhen" fehlt.

In der Gruppe der Mastopathien weisen die proliferierenden eine höhere Spontanaktivität auf als die nichtproliferierenden. Die Differenz im Proaktivatorgehalt der proliferierenden und einfachen Mastopathien ist statistisch nicht gesichert.

Der Aktivatorgehalt des neben Karzinomgewebe entnommenen Mastopathiegewebes unterscheidet sich nicht von dem der Mastopathien Nr. 68-93. Unterschiede bestehen lediglich hinsichtlich des Gewebeinhibitors, der der "Karzinom-Mastopathie" fehlt, während er in der Mastopathiegruppe nachweisbar ist.

VII. L i t e r a t u r ü b e r s i c h t

- (1) ALBERTINI, A.v.:
"Histologische Geschulst Diagnostik",
Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart 1955
- (2) ASTRUP, T.:
Neuere Aspekte in der Blutgerinnung und der
Fibrinolyse und ihre Beziehungen zur Koronar-
thrombose und Koronarsklerose.
Wien. Z. inn. Med. 39, 373, 1958
- (3) ASTRUP, T. and ALBRECHTSEN, O.K.:
The fibrinolytic activity of the human endometrium.
Acta endocrin., Kbh. 23, 207, 1956
- (4) ASTRUP, T. and MÜLLERTZ, S.:
The fibrin plate method for estimating fibrino-
lytic activity.
Arch. Biochem. Biophys. 40, 346, 1952
- (5) ASTRUP, T. and STAGE, A.:
Isolation of a soluble fibrinolytic activator
from animal tissue.
Nature 170, 929, 1952
- (6) CLIFFTON, E.E. and GROSSI, C.E.:
Fibrinolytic activity of human tumors as
measured by the Fibrin-Plate Method.
Cancer 8, 1146-1154, 1955
- (7) EICHHORN, Ch.:
Untersuchungen über den Gehalt des Endometriums
und Myometriums an Fibrinokinasen in Abhängigkeit
vom Zyklus, von gynäkologischen Erkrankungen und
unter dem Einfluß von Gestagenen.
med. Diss., Freie Universität Berlin 1970

- (8) FERGUSON, J.H. and LEWIS, J.H.:
Studies on a proteolytic Enzyme System of the blood.
II. Fibrinolysokinase activators for Profibrinolysin.
J. clin. Invest. 29, 1059, 1950
- (9) FUHRMANN, K.:
Untersuchungen über die fibrinolytische Aktivität
des Endometriums.
Zbl. Gynäk. 84, 1457, 1962
- (10) GERSHON-COHEN, J. and SCHORR, S.:
The diagnostic problems of isolated, circumscribed breast tumors.
Amer. J. Roentgenol. 106, 863-870, 1969
- (11) HALSE, T.H.:
Beiträge zur Wirkung und Bedeutung des fibrinolytischen Potentials.
Z. ges. inn. Med. 2, 613, 1947
- (12) HENGST, M.:
Einführung in die mathematische Statistik und ihre Anwendung.
Bibliographisches Institut AG, Mannheim 1967
- (13) HERSCHLEIN, H.-J.:
Die antiproteolytische Therapie generalisierter und lokaler Störungen der Blutgerinnung in Geburtshilfe und Gynäkologie.
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart/New York 1970
- (14) HESS, R.:
Localization of a Cathepsin-like and Amino-peptidase activity in various solid tumor transplants.
Cancer Res. 20, 940-942, 1960
- (15) JÜRGENS, J. und BELLER, F.K.:
Klinische Methoden der Blutgerinnungsanalyse.
Thieme, Stuttgart 1959

- (16) KAULLA, K.N. v. und SCHETTLES:
Beitrag zur Kenntnis des proteolytischen Ferment-
systems im menschlichen Spermaplasma, mucus cer-
vicalis, Tubenschleimhaut und Liquor folliculi.
Klin. Wschr. 32, 468, 1954
- (17) KLEINMANN, H.:
Über Eiweiß-abbauende Fermente in normalen Gewe-
ben und bösartigen Geschwülsten.
Klin. Wschr. 32, 1503-1504, 1931
- (18) KRAFT-KINZ, J., EIDE, M., FRIEHS, G. und KOCH, G.:
Zur Problematik der Blutstillung in der Herzchi-
rurgie. Sonderdruck aus Thoraxchirurgie 17,
157-166, 1969
- (19) KREBS, A.:
Über die Proteolyse der Tumoren.
Biochem. Z. 238, 174, 1931
- (20) KREUZER, G.:
Die Diagnostik gut- und bösartiger Veränderungen
der weiblichen Brustdrüse durch klinische, rönt-
genologische und zytologische Methoden im Ver-
gleich zum histologischen Substrat.
Med. Habilitation, Freie Universität Berlin 1971
- (21) KULLANDER, S. und KÄLLEN, B.:
The fibrinolytic activity of human endometrium,
studied in tissue culture.
Acta obstet. gynec. Scand. 40, 1-15, 1961
- (22) LASSEN, M.:
Heat denaturation of plasminogen in the fibrin
plate method.
Acta physiol. Scand. 27, 371-376, 1952

- (23) LIBAL, B.:
Über das fibrinolytische Potential von Plazenta-
gewebe.
Med. Diss., Freie Universität Berlin 1961
- (24) LUDWIG, H.:
Mikrozirkulationsstörungen und Diapedeseblutungen
im fetalen Gehirn bei Hypoxie.
Fortschr. Geburtsh. Gynäk. Vol. 33, 1968
(Bibliotheca gynaecologica 46)
- (25) MAASS, H.:
Einige Gesichtspunkte zur Ätiologie, Diagnostik
und Therapie des Mammakarzinoms.
Materia medica Nordmark 3, 113-123, 1969
- (26) MARBET, R.:
Fibrinolyse - Probleme.
Arch. Gynäk. 189, 522, 1956
- (27) NIESERT, W.:
Das Verhalten der Fibrinolyse unter der Geburt
und post partum.
Arch. Gynäk. 187, 144-153, 1955
- (28) PERMIN, P.M.:
The fibrinolytic activator in animal tissue.
Acta physiol. scand. 21, 159-167, 1950
- (29) PFLEIDERER, A.:
Enzymhistochemische Untersuchungen am Carcinom
des Corpus uteri.
Fortschr. Geburtsh. Gynäk. Vol. 36, 1968
(Bibliotheca gynaecologica 49)
- (30) PHILLIPS, L.L., BUTLER, B.C. and TAYLOR, H.C.:
A study of cytofibrinokinase and fibrinolysin in
extracts of tissue from human myometrium, endo-

metrium, decidua and placenta.

Amer. J. Obstet. Gynec. 71, 342-349, 1956

- (31) SAILER, S.:

"Grundlagen der Fibrinolyse und Thrombolyse", in:
Aktuelle Probleme der Fibrinolyse-Behandlung.

Verlag Brüder Hollinek, Wien 1972

- (32) SANDRITTER, W. und SCHORN, J.:

"Histopathologie"

F.K. Schattauer, Stuttgart 1965

- (33) SANTESSON, L.:

Characteristics of epithelial mouse tumour cells
in vitro and tumour structures in vivo. A com-
parative study.

Acta path. microbiol. scand. 24, 193-213, 1935

- (34) SANTESSON, L. and CASPERSSON, T.:

Studies on protein metabolism in the cells of
epithelial tumours.

Acta radiol. 25, 113-119, 1944

- (35) SCHMIDT-MATTHIESEN, H.:

Die fibrinolytische Aktivität in Endometrium und
Decidua und ihre Beziehung zur klinischen Sympto-
matik.

Arch. Gynäk. 204, 255, 1967

- (36) SCHMIDT-MATTHIESEN, H.:

Probleme der Therapie mit Antifibrinolytica in der
Geburtshilfe und Gynäkologie. Diskussionsbeitrag.

Arch. Gynäk. 207, 377, 1969

- (37) SCHMIDT-MATTHIESEN, H.:

Die fibrinolytische Aktivität von Endometrium und
Myometrium, Dezidua und Plazenta, Kollum- und
Korpuskarzinomen.

Karger, Basel/New York 1967

- (38) SHIRAI, T.:
Zur Methode der Bestimmung der fibrinolytischen
Aktivität in Plasma.
Klin. Wschr. 12, 586-588, 1964
- (39) STAMM, H.:
Einführung in die Klinik der Fibrinolyse.
Karger, Basel/New York 1962
- (40) SYLVÉN, B. and BOIS, I.:
Protein content and enzymatic assays of inter-
stitial fluid from some normal tissues and
transplanted mouse tumors.
Cancer Res. 20, 831-835, 1960
- (41) SYLVÉN, B. and MALMGREN, H.:
Topical distribution of proteolytic activities
in some transplanted mice tumors.
Exp. Cell. Res. 8, 575-577, 1955
- (42) SYLVÉN, B. and MALMGREN, H.:
The histological distribution of proteinase and
peptidase activity in solid tumor transplants.
Acta radiol., Stockholm, Suppl. 154, 1957
- (43) TAGNON, H.J. and PALADE, G.E.:
Activation of Proplasmin by a factor from
mammalian tissue.
J. clin. Invest. 29, 317, 1950
- (44) TAGNON, H.J. and PETERMANN, M.L.:
Activation of proplasmin by a tissue fraction.
Proc. Soc. exp. Biol., N.Y. 70, 359, 1949
- (45) TAGNON, H.J., WHITMORE, W.F., SCHULMAN, P., KRAVITZ
The significance of fibrinolysis occurring in
patients with metastatic cancer of the prostate.
Cancer 6, 63-67, 1953

- (46) TODD, A.S.:
The histological localization of fibrinolysin activator.
J. Path. Bact. 78, 281-283, 1959
- (47) TORLONI, H. and R.W. SCARFF:
Histological typing of breast tumours.
WHO, Genf 1968
- (48) TURKSOY, R.N., PHILLIPS, L.L. and A.L. SOUTHBAM
Influence of ovarian function on the fibrinolytic enzyme system. 1. Ovulatory and anovulatory cycles.
Amer. J. Obstet. Gynec. 82, 1211, 1961
- (49) VILLADOLID, L.S. und Mitarbeiter:
Die Wirkung von konjugierten Östrogenen und Östrialsuccinat auf die Fibrinolyse.
Acta med. phil. 82, 1965
- (50) VOSS, B.R.:
Der Gehalt des Plazentargewebes an fibrinolytischen Gewebsaktivatoren unter normalen und pathologischen Verhältnissen.
Med. Diss., Freie Universität Berlin 1969
- (51) WILLE, P.:
Über das Vorkommen eines fibrinolytischen Systems in der Plazenta.
Folia haematologica 1, 230, 1957

VIII. A n h a n g

A. Im Anhang verwendete Abkürzungen

Testansatz 1	=	Nativansatz 1:10
" 2	=	Nativansatz 1:20
" 3	=	unkorrigierter Proaktivator
" 4	=	KSCN - Ansatz 1:10
" 5	=	KSCN - Ansatz 1:20
" 6a	=	Proaktivatorzeit
" 6b	=	Inhibitorzeit
" 7	=	korrigierter Proaktivator
" 8a	=	errechneter zellulärer Aktivator (K 1:10 - N 1:10)
" 8b	=	errechneter zellulärer Aktivator (K 1:20 - N 1:20)

(Erläuterungen zu den Testansätzen siehe III. E.)

Ca. sol. med.	=	Carcinoma solidum medullare
simpl.p.scirrh.	=	simplex partim scirrhosum
adenom.	=	adenomatosum
organ.	=	organoid
gelatin.	=	gelatinosum
einf. Mast.	=	einfache Mastopathia
fibr. cyst.	=	fibrosa cystica
prolif. Mast.	=	proliferierende Mastopathie
Fib.	=	Fibroadenom
Inhib. +	=	Inhibitor nachweisbar
M	=	Mittelwert
St.	=	Standardabweichung

B. Tabellen

Tabelle I: Übersicht über das verarbeitete Material

Klassifizierung	Anzahl	Präparat-Nr.
Karzinome	50	1 - 50
-----	-----	-----
Carcinoma medullare	10	1 - 10
Carcinoma simplex	15	11 - 25
Carcinoma scirrhosum	19	26 - 44
Carcinoma gelatinosum	6	45 - 50
-----	-----	-----
Karzinome mit produkti- ver Fibrose	31	1,2,8,11,12, 15,18,19,20, 23-26,28-44, 49
zirkumskripte Karzinome	19	3-7,9,10,13, 14,16,17,21, 22,27,45-48, 50
-----	-----	-----
Sondergruppe	5	51 - 55
-----	-----	-----
Mastopathien	26	68 - 93
-----	-----	-----
einfache Mast.	19	68-80,82-87
prolif. Mast.	7	81, 88-93
-----	-----	-----
Mastopathie (neben Karzinom)	12	56 - 67
-----	-----	-----
Fibroadenom	11	94 - 104
-----	-----	-----

Tabelle II: Einzelwerte

*) aus techn.Gründen kein Ergebnis

Nr.	Histologie	Test- ansatz	1	2	3	4	5	6a	6b	Inhi- bitor	7	8a	8b
<u>1. Carcinoma</u>													
1	sol.med.		40	25	425	64	36	405	484	+	400	24	11
2	sol.med.		49	30	441	576	484	1200	1200		411	527	454
3	sol.med.		70	56	625	320	225	-*)	-*)		569	250	169
4	sol.med.		49	0	324	121	100	815	743	+	324	72	100
5	sol.med.		0	0	576	500	441	1030	874	+	576	500	441
6	sol.med.		240	196	400	529	500	690	637	+	204	289	304
7	sol.med.		324	256	342	900	625	-	-		86	576	369
8	sol.adenom.med.		361	301	324	841	784	1176	1052		20	480	480
9	adenom.organ.med.		342	36	529	676	400	785	970	+	493	334	364
10	sol.med.p.simpl.		196	169	460	648	529	902	930	+	291	452	360
11	sol.simpl.		256	121	361	484	420	1200	1200		240	228	299
12.	sol.simpl.		400	342	400	550	361	1200	1200		58	150	19
13	sol.simpl.		100	64	529	225	156	740	898	+	465	125	92
14	sol.simpl.		72	49	441	441	324	840	967	+	392	369	275
15	sol.simpl.		272	248	500	729	506	948	1030	+	252	457	258
16	sol.simpl.		120	36	750	529	441	-	-		714	409	405
17	sol.adenom.simpl.		256	121	441	525	425	-	-		320	269	304
18	sol.simpl.p.scurr.		225	196	400	784	757	990	1024	+	204	559	561
19	sol.simpl.p.scurr.		196	144	484	784	676	741	690		340	588	532
20	sol.simpl.p.scurr.		196	144	441	361	324	790	864	+	297	165	180
21	sol.simpl.p.scurr.		234	169	625	420	361	660	614		456	186	192

Nr.	Histologie	Test- Ansatz	1	2	3	4	5	6a	Inhi- bitor	7	8a	8b
22	sol.simpl.p.scirr.	441	400	625	841	676	925	922	225	400	276	
23	sol.simpl.p.scirr.	320	229	276	620	541	-	-	47	300	312	
24	sol.simpl.p.scirr.	225	169	750	700	676	1071	900	581	475	507	
25	sol.simpl.p.scirr.	484	361	576	529	380	839	633	215	45	19	
26	sol.scirr.	240	121	324	550	441	930	960	203	310	320	
27	sol.scirr.	462	361	504	460	344	656	827	143	0	0	
28	sol.scirr.	169	90	342	529	441	1200	997	252	360	351	
29	sol.scirr.	361	196	420	441	372	1108	969	224	80	176	
30	sol.scirr.	361	256	506	552	380	640	713	250	191	124	
31	sol.scirr.	169	90	441	462	324	640	626	351	293	234	
32	sol.scirr.	450	289	400	810	750	739	747	111	360	461	
33	sol.scirr.	361	304	330	625	529	1095	983	26	264	225	
34	sol.scirr.	529	380	484	1009	840	1020	793	104	480	460	
35	sol.scirr.	484	441	484	630	480	-	-	43	146	37	
36	sol.scirr.	324	256	576	676	484	-	-	320	352	228	
37	sol.scirr.	400	289	441	625	520	826	784	152	225	231	
38	sol.scirr.	144	100	441	324	300	850	667	341	180	200	
39	sol.scirr.	480	400	529	580	500	956	842	129	100	100	
40	sol.scirr.	196	144	300	576	484	743	601	156	380	340	
41	sol.p.adenom.scirr.	500	441	900	755	600	1200	1200	459	255	159	
42	sol.p.adenom.scirr.	550	490	784	900	784	903	1047	294	350	294	
43	adenom.scirr.	81	36	361	441	324	1012	882	325	360	288	
44	adenom.scirr.	100	81	441	324	280	811	718	360	224	199	

Nr.	Histologie	Test- ansatz	1	2	3	4	5	6a	6b	Inhi- bitor	7	8a	8b
45	gelatin.		306	169	702	380	336	813	1200	+	533	74	167
46	gelatin.		100	64	374	420	360	1200	1200		310	320	296
47	gelatin.		0	0	324	381	240	903	818		324	381	240
48	gelatin.		841	529	750	1296	864	683	720	+	221	455	335
49	gelat.p.sol.scirr.		484	300	441	625	529	930	955	+	141	141	229
50	gelat.p.sol.scirr.		380	340	650	868	810	1200	1060		310	488	470
51	Cystosakoma phyll.		25	25	676	64	25	395	400	+	650	39	0
52	Retothelsarkom		0	0	900	121	100	701	669		900	121	100
53	sol.simpl.(Hautmeta- stase)		0	0	625	144	100	1153	988		625	144	100
54	sol.med.		0	0	441	256	240	660	648		441	256	240
55	sol.simpl.		420	361	441	484	441	849	795		80	64	80

2. Neben-Carcinom-entnommenes Mastopathiegewebe:

56	(20 = zugehöriges Ca.)	400	289	576	576	400	708	557	287	176	111
57	(21)	361	225	400	441	361	489	394	175	101	136
58	(24)	165	121	676	484	289	650	525	535	319	168
59	(25)	225	120	625	576	441	795	518	505	351	321
60	(30)	324	196	418	484	374	470	485	+	222	178
61	(31)	196	121	529	529	400	540	488	408	333	279
62	(32)	380	208	625	529	400	543	592	+	417	192

Nr.	Histologie	Test- ansatz	1	2	3	4	5	6a	6b	Inhi- bitor	7	8a	8b
63	(39)		210	72	462	400	360	529	524		390	190	288
64	(40)		256	64	750	380	289	760	591		686	124	225
65	(47)		196	100	576	484	324	525	515		476	288	224
66	(48)		441	289	441	504	400	559	594	+	152	63	111
67	(49)		324	225	374	594	441	580	618	+	149	270	216
<u>3. Mastopathia</u>													
68	einf.Mast.fibr.		441	289	784	578	420	675	602		495	137	131
69	einf.Mast.fibr.		210	100	300	289	121	735	755	+	200	79	21
70	einf.Mast.fibr.		272	210	288	324	256	1200	1200		78	52	46
71	einf.Mast.fibr.		270	196	1024	729	529	300	396	+	828	459	333
72	einf.Mast.fibr.		400	256	841	625	500	478	473		585	225	244
73	einf.Mast.fibr.		256	180	900	483	342	573	580	+	620	227	162
74	einf.Mast.fibr.		225	156	900	340	340	504	460		744	115	184
75	einf.Mast.fibr.		210	180	484	441	289	790	845	+	304	231	109
76	einf.Mast.fibr.		120	90	425	306	224	650	751	+	335	186	134
77	einf.Mast.fibr.		210	81	598	272	240	405	470	+	517	62	159
78	einf.Mast.fibr.		441	324	625	576	484	664	670	+	301	135	160
79	einf.Mast.fibr.		225	81	676	462	324	938	845		595	237	243
80	einf.Mast.fibr.		210	121	238	360	224	900	1140	+	117	150	103
81	prolif.Mast.fibr.		380	289	676	529	420	630	760	+	387	149	131
82	einf.Mast.fibr.cyst.		196	100	441	484	324	427	435	+	341	288	224

Nr.	Histologie	Test- ansatz	1	2	3	4	5	6a	6b	Inhi- bitor	7	8a	8b
83	einf.Mast.fibr.cyst.	400	169	440	576	506	630	516	271	176	337		
84	einf.Mast.fibr.cyst.	196	120	530	441	289	483	403	410	245	169		
85	einf.Mast.fibr.cyst.	100	42	644	256	180	447	424	602	156	138		
86	einf.Mast.fibr.cyst.	270	132	289	380	340	966	1200	157	110	208		
87	einf.Mast.fibr.cyst.	440	360	529	640	460	-	-	169	200	100		
88	proli.Mast.fib.cyst.	144	121	324	462	400	545	556	203	318	279		
89	proli.Mast.fib.cyst.	400	306	380	676	529	787	646	74	276	223		
90	proli.Mast.fib.cyst.	378	323	552	529	380	522	548	229	151	57		
91	proli.Mast.fib.cyst.	306	144	550	529	400	785	693	406	223	256		
92	proli.Mast.fib.cyst.	484	306	529	576	420	546	550	223	92	114		
93	proli.Mast.fib.cyst.	432	300	378	420	342	876	1200	78	0	42		
4. <u>Fibroadenom</u>													
94	Fibroadenom	320	320	810	340	340	673	700	470	20	20		
95	Fibroadenom	225	169	441	625	400	559	565	272	400	231		
96	Fibroadenom	360	225	625	441	360	463	430	400	81	135		
97	Fibroadenom	420	289	484	625	600	-	898	195	205	311		
98	Fibroadenom	400	224	418	650	441	485	496	194	250	217		
99	Fibroadenom	400	225	986	625	484	490	457	761	225	259		
100	Fibroadenom	400	306	484	441	324	816	1140	178	41	18		
101	Fibroadenom	196	196	289	600	400	200	1037	93	404	204		
102	Fibroadenom	9	8	176	575	441	638	735	168	566	433		
103	Fibroadenom	256	121	700	441	324	622	648	579	185	203		
104	Fibroadenom	144	144	900	180	196	556	573	756	36	52		

Tabelle III: Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome (n = 50), Mastopathien (n = 26) und Fibroadenome (n = 11)

Testansatz		Kar- zinom	Masto- pathie	Fibro- adenom
N 1:10 (mm ²)	M	278,8	292,9	284,5
	St	172,0	111,7	130,5
N 1:20 (mm ²)	M	200,5	191,3	202,4
	St	140,9	93,2	90,0
unkorrigierter Proaktivator (mm ²)	M	485,8	551,7	573,9
	St	140,1	208,5	252,4
korrigierter Proaktivator (mm ²)	M	285,2	356,5	369,7
	St	157,9	210,1	239,1
K 1:10 (mm ²)	M	578,7	472,4	503,9
	St	221,6	129,2	148,2
K 1:20 (mm ²)	M	468,8	357,0	391,8
	St	187,4	109,1	103,1
K _{1:10} - N _{1:10} (mm ²)	M	299,9	179,9	219,3
	St	153,8	95,2	175,5
K _{1:20} - N _{1:20} (mm ²)	M	268,9	165,6	189,3
	St	141,8	84,0	126,1
Proaktivatorzeit (sec)	M	907,0	658,2	650,2
	St	194,5	207,8	219,3
Inhibitorzeit (sec)	M	887,0	684,7	698,0
	St	188,2	255,9	234,2
Gewebeinhibitor		fehlt	vorhand.	vorhanden

M = Mittelwert, St = Standardabweichung

Tabelle IV: t-Werte

Vergleich Karzinom / Mastopathie:

korrigierter Proaktivator	:	$t_x = 1,66$
K 1:10	:	$t_x = 2,259$ ($t_{0,05}(f) = 2,0$)
K 1:20	:	$t_x = 2,811$ ($t_{0,01}(f) = 2,66$)
$K_{1:10} - N_{1:10}$	:	$t_x = 3,64$ ($t_{0,001}(f) = 3,29$)
$K_{1:20} - N_{1:20}$	:	$t_x = 3,422$ ($t_{0,001}(f) = 3,29$)
Proaktivatorzeit	:	$t_x = 4,969$ ($t_{0,001}(f) = 3,29$)
Inhibitorzeit	:	$t_x = 3,74$ ($t_{0,001}(f) = 3,29$)

Vergleich Karzinom / Fibroadenom:

korrigierter Proaktivator	:	$t_x = 1,46$
Proaktivatorzeit	:	$t_x = 3,677$ ($t_{0,001}(f) = 3,495$)
Inhibitorzeit	:	$t_x = 2,839$ ($t_{0,01}(f) = 2,678$)

Tabelle V: Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome

Testansatz		gelat. (n=6)	med. (n=10)	simpl. (n=15)	scirr. (n=19)
N 1:10 (mm ²)	M	351,8	167,1	253,1	334,7
	St	297,4	141,0	118,1	153,4
N 1:20 (mm ²)	M	233,6	106,9	186,2	250,7
	St	194,2	112,4	111,3	141,8
unkorrigierter Proaktivator (mm ²)	M	540,1	441,6	506,6	474,1
	St	181,5	104,5	136,2	149,7
korrigierter Proaktivator (mm ²)	M	306,5	337,4	320,4	223,3
	St	130,7	190,2	179,7	118,0
K 1:10 (mm ²)	M	661,6	517,5	568,1	593,5
	St	362,2	277,5	173,3	178,9
K 1:20 (mm ²)	M	523,1	412,4	468,2	481,9
	St	259,6	231,2	167,0	162,7
K _{1:10} - N _{1:10} (mm ²)	M	309,8	350,4	315,0	258,4
	St	167,7	190,6	164,8	120,5
K _{1:20} - N _{1:20} (mm ²)	M	289,5	305,2	281,4	233,0
	St	105,1	158,8	169,5	123,0
Proaktivator- zeit (sec)	M	954,8	875,3	912,0	901,7
	St	207,5	261,7	176,7	184,0
Inhibitorzeit (sec)	M	992,1	861,2	911,8	844,4
	St	197,4	229,3	193,2	161,8
Inhibitor		vorhanden fehlt		fehlt	fehlt

Tabelle VI: Die fibrinolytische Aktivität der "Sziirrhén" (n=31) und der vorwiegend zirkumskript wachsenden Karzinome (n=19)

Testansatz		"Sziirrhén"	zirkumskripte
N 1:10 (mm ²)	M	303,4	238,5
	St	149,8	204,9
K 1:10 (mm ²)	M	595,3	551,5
	St	190,0	273,5
K _{1:10} - N _{1:10} (mm ²)	M	291,9	313,1
	St	153,5	161,5
korrigierter Proaktivator (mm ²)	M	235,5	366,1
	St	137,3	163,5
unkorrigierter Proaktivator (mm ²)	M	462,0	524,0
	St	147,3	136,2
Proaktivatorzeit (sec)	M	934,3	856,1
	St	204,8	175,9
Inhibitorzeit (sec)	M	884,3	892,0
	St	200,5	176,3
Inhibitor		fehlt	vorhanden

Student-t-Signifikanztest:

N 1:10	-	t _x = 1,29	
K 1:10	-	t _x = 0,67	
K _{1:10} - N _{1:10}	-	t _x = 0,46	
korrigierter Proaktivator	-	t _x = 3,05	(t _{0,1} (f) = 2,67)
Proaktivatorzeit	-	t _x = 1,255	
Inhibitorzeit	-	t _x = 0,125	

Tabelle VII: Die fibrinolytische Aktivität der Mastopathien

Testansatz		einfach (n=19)	prolif. (n = 7)
N 1:10 (mm ²)	M	268,0	360,5
	St	105,1	108,8
N 1:20 (mm ²)	M	167,7	255,5
	St	87,1	84,1
unkorrigierter Proaktivator (mm ²)	M	576,6	484,1
	St	230,4	124,9
korrigierter Proaktivator (mm ²)	M	403,6	228,5
	St	217,6	130,3
K 1:10 (mm ²)	M	450,6	531,5
	St	138,8	81,0
K 1:20 (mm ²)	M	336,4	413,0
	St	117,7	57,2
K _{1:10} - N _{1:10} (mm ²)	M	182,6	172,7
	St	93,3	108,2
K _{1:20} - N _{1:20} (mm ²)	M	168,6	157,4
	St	82,5	94,6
Proaktivator- zeit (sec)	M	653,6	670,0
	St	232,3	142,3
Inhibitorzeit (sec)	M	675,8	707,5
	St	271,8	229,6
Inhibitor		vorhanden	vorhanden

Tabelle VIII: Der Aktivatorgehalt des neben Ca-Gewebe entnommenen Mastopathiegewebes im Vergleich zu den Mastopathien (Nr. 68-93)

Testansatz		Mast.(Ca) (n=12)	Mast. (n=26)
N 1:10 (mm ²)	M	289,8	292,9
	St	92,7	111,7
N 1:20 (mm ²)	M	169,1	191,3
	St	79,1	93,2
unkorrigierter Proaktivator (mm ²)	M	537,6	551,7
	St	119,2	208,5
korrigierter Proaktivator (mm ²)	M	366,8	356,5
	St	170,7	210,1
K 1:10 (mm ²)	M	498,4	472,4
	St	67,6	129,2
K 1:20 (mm ²)	M	373,2	357,0
	St	51,1	109,1
K _{1:10} - N _{1:10} (mm ²)	M	210,3	179,9
	St	97,3	95,2
K _{1:20} - N _{1:20} (mm ²)	M	204,0	165,6
	St	68,0	84,0
Proaktivator- zeit (sec)	M	595,6	658,2
	St	106,7	207,8
Inhibitorzeit (sec)	M	533,4	684,7
	St	62,0	55,9
Inhibitor		fehlt	vorhanden

C. Abbildungen

Abb. 1: Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome (n=50), Mastopathien (n= 26) und Fibroadenome (n=11) in den Nativansätzen N 1 : 10 und N 1 : 20.

(a = Karzinom, b = Mastopathie,
d = Fibroadenom)

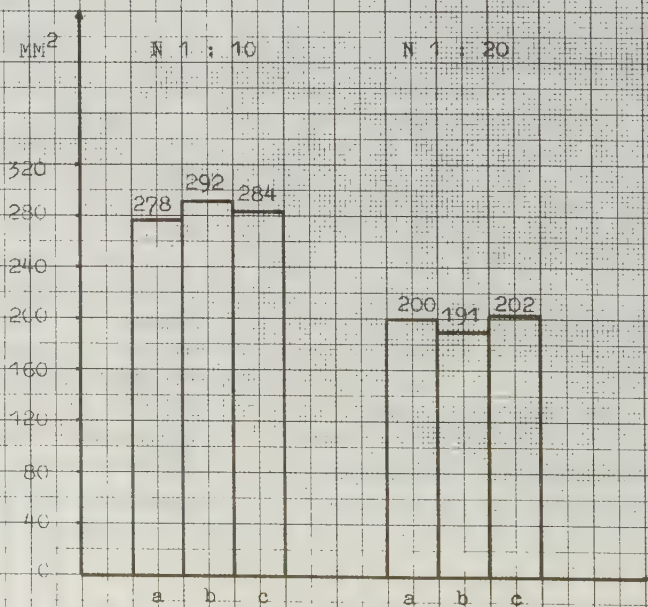


Abb. 2: Der unkorrigierte und korrigierte Proaktivator-
gehalt der Karzinome (n=50), Mastopathien
(n=26) und Fibroadenome (n=11).

(a = Karzinom, b = Mastopathie,
c = Fibroadenom)

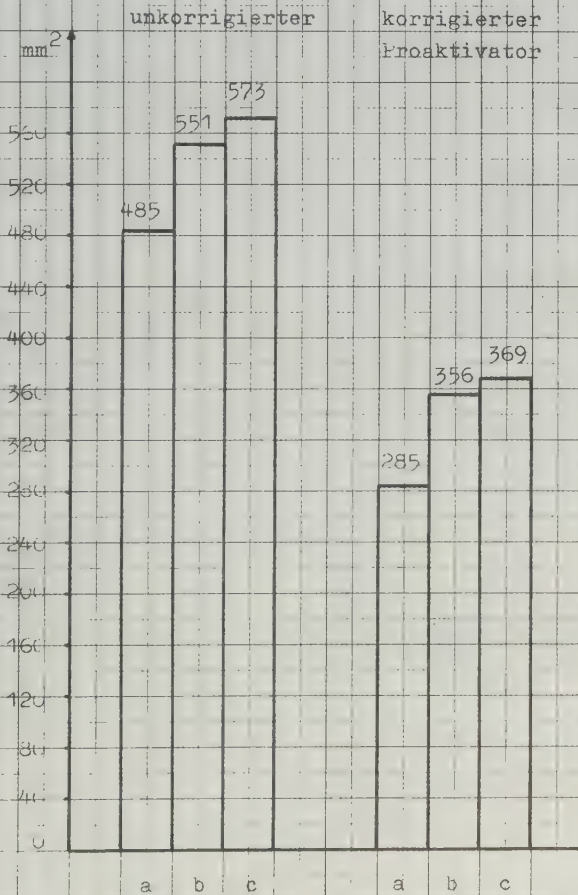


Abb. 3a: Der zelluläre Aktivatorgehalt der Karzi -
nome (n=50), Mastopathien (n=26) und
Fibroadenome (n=11) in den Testansätzen
K 1 : 10 und K 1 : 20

(a = Karzinom, b = Mastopathie,
c = Fibroadenom)

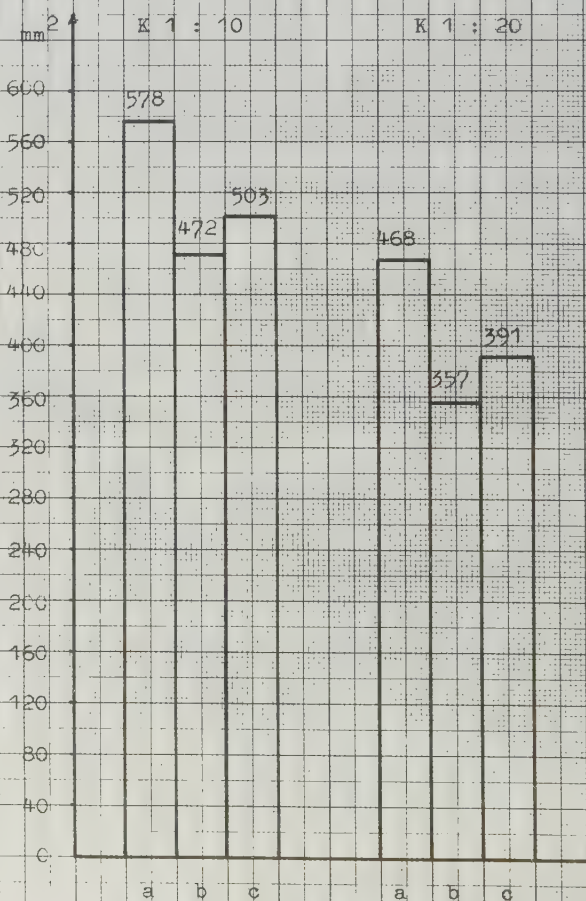


Abb. 3b: Der errechnete zelluläre Aktivatorgehalt
der Karzinome (n=50), Mastopathien (n=26)
und Fibroadenome (n=11)

(a = Karzinom, b = Mastopathie,
c = Fibroadenom)

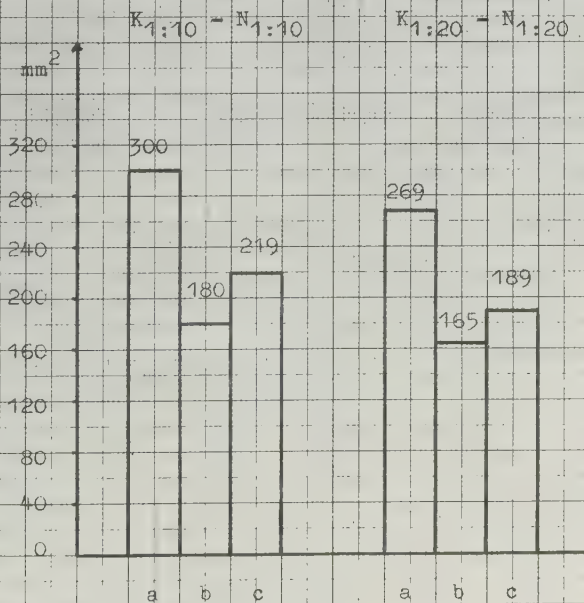


Abb.4: Die Proaktivator- und Inhibitorzeiten der
Karzinome (n=43), Mastopathien (n=25)
und Fibroadenome (n=10)

(a = Karzinom, b = Mastopathie,
c = Fibroadenom)

 Proaktivatorzeit
 Inhibitorzeit

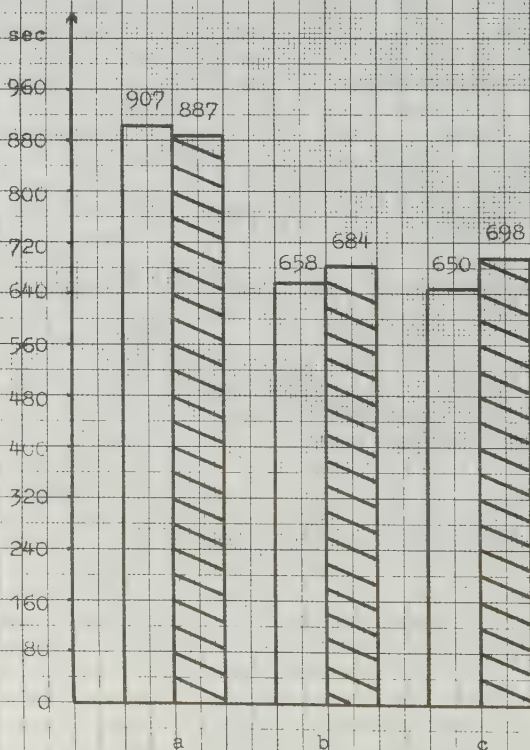


Abb. 5: Die fibrinolytische Aktivität der Karzinome
in den Nativansätzen N 1 : 10 und N 1 : 20

- a = Carcinoma medullare
b = Carcinoma simplex
c = Carcinoma scirrhosum
d = Carcinoma gelatinosum

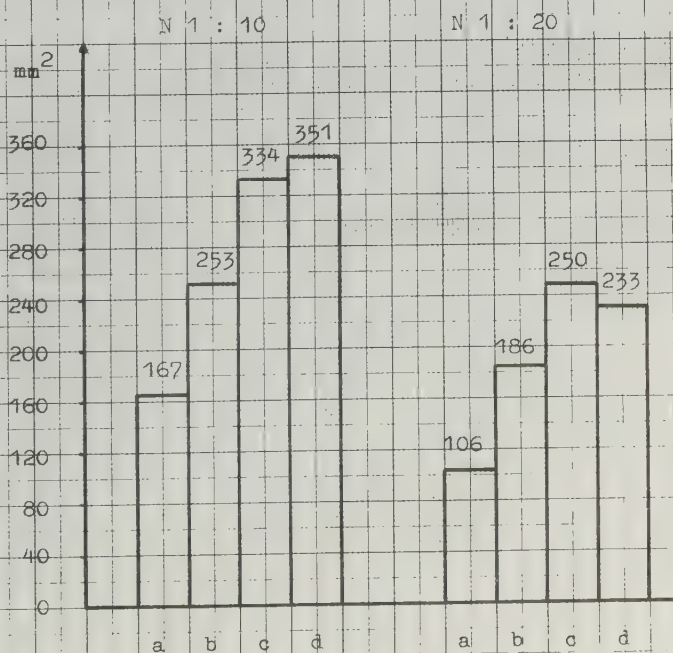


Abb.6: Der unkorrigierte und korrigierte Proakti-
vatorgehalt der Karzinome

a = Carcinoma gelatinosum

b = Carcinoma medullare

c = Carcinoma simplex

d = Carcinoma scirrhusum

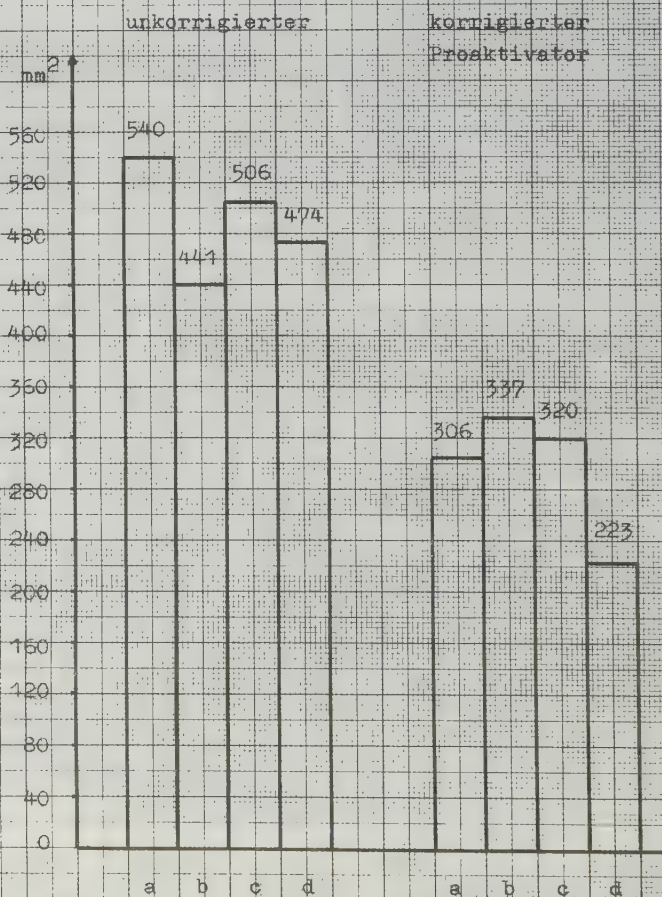


Abb. 7a: Der zelluläre Aktivatorgehalt der Karzinome
in den Testansätzen K 1:10 und K 1:20
(a = Carcinoma gelatinosum, b = Ca. medullare
c = Ca. simplex, d = Ca. scirrhosum)

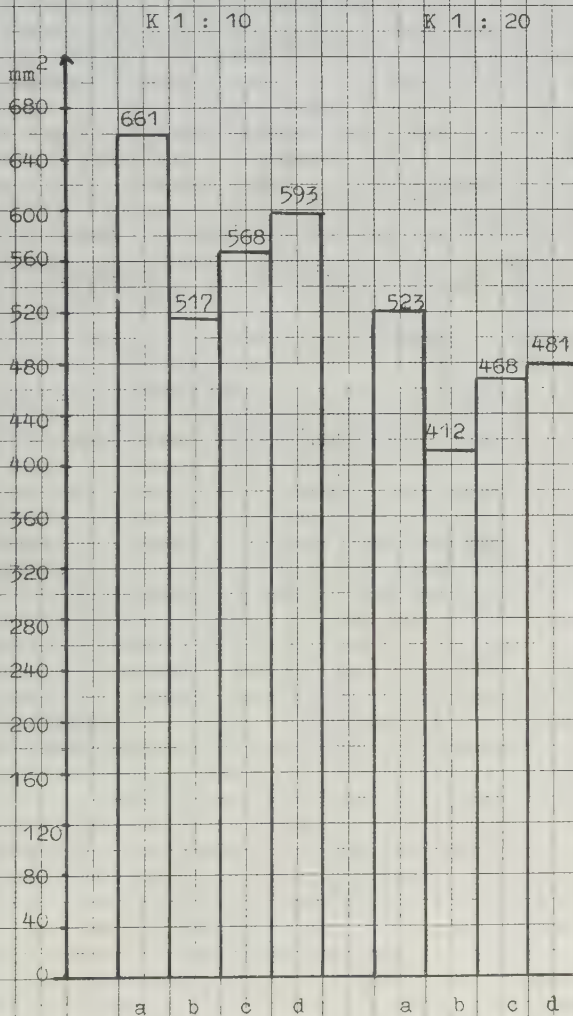


Abb. 7b: Der errechnete zelluläre Aktivatorgehalt
der Karzinome

(a = Ca.gelatinosum, b = Ca.medullare
c = Ca.simplex, d = Ca.scirrhosum)

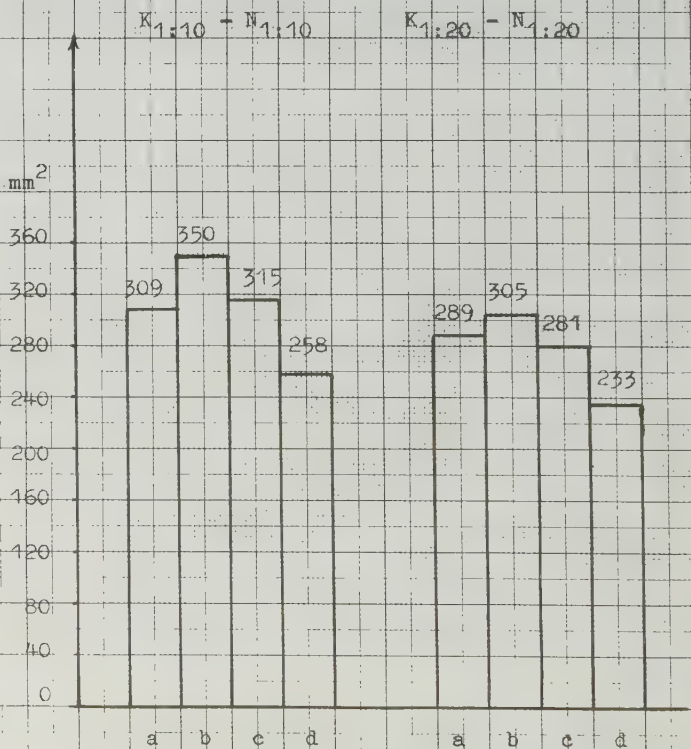
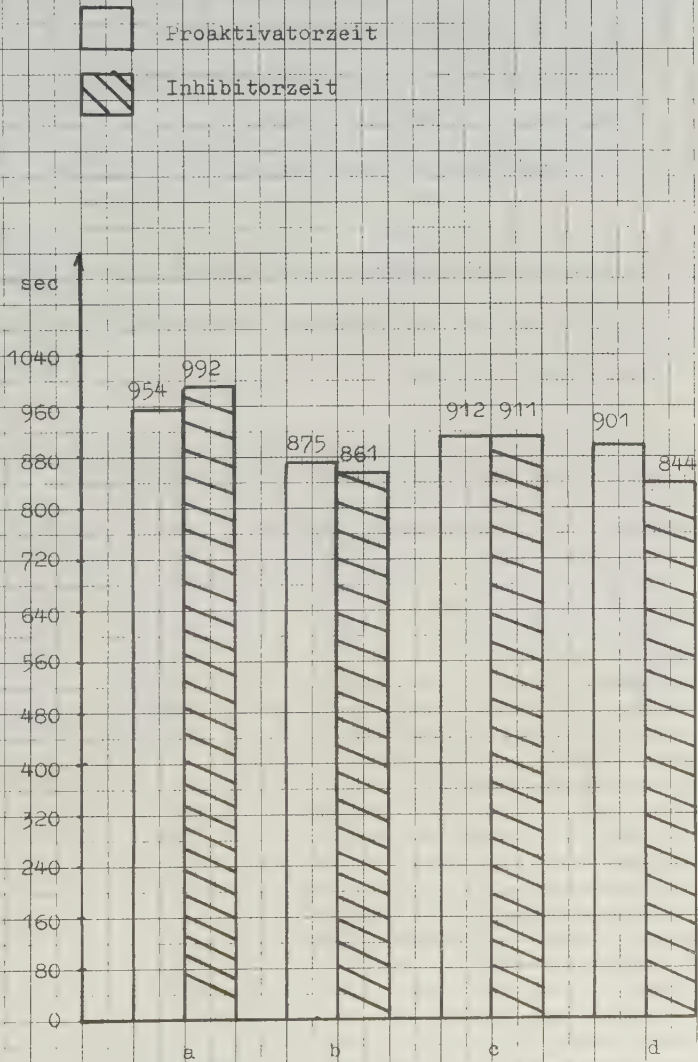
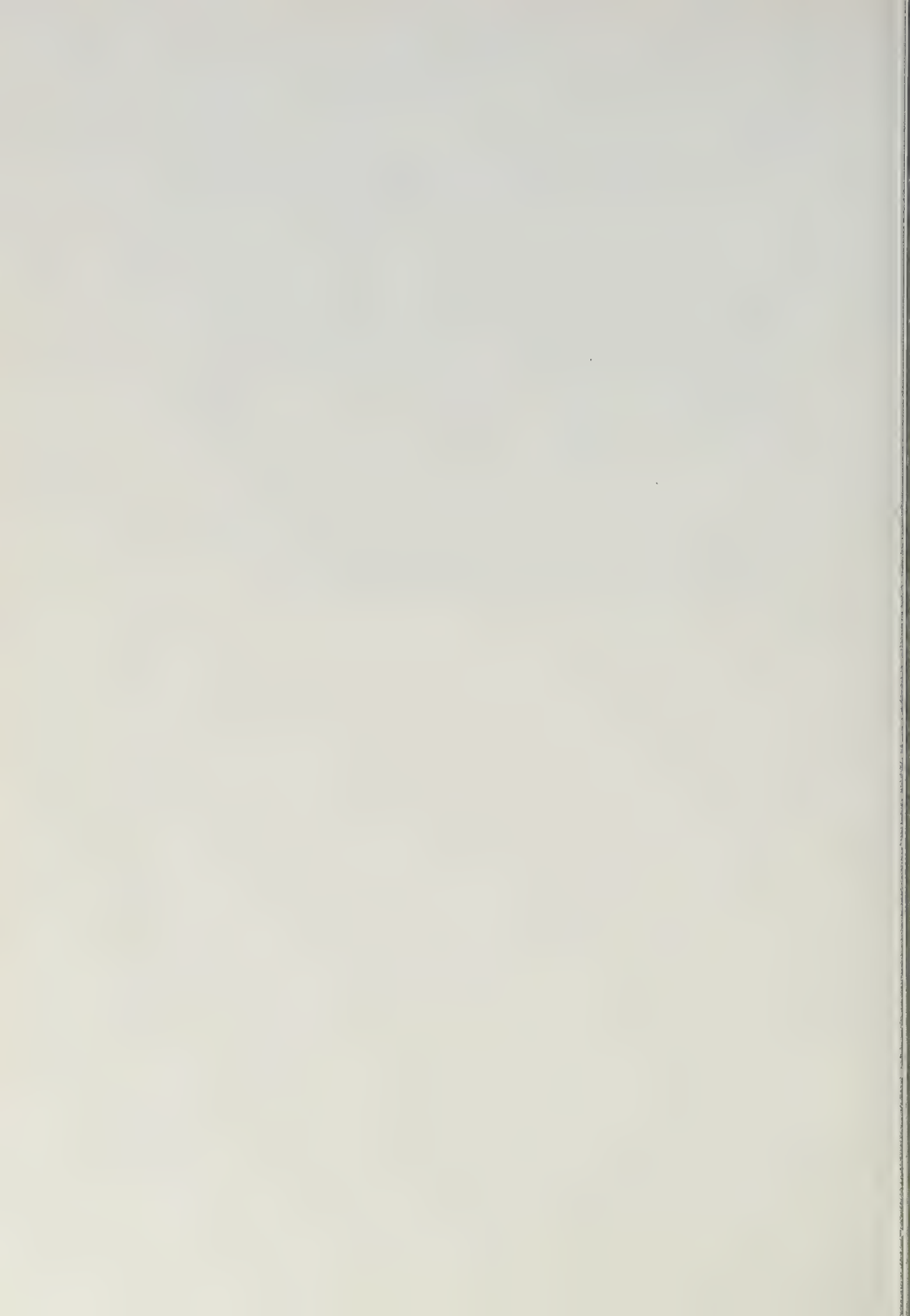


Abb. 8: Die Proaktivator- und Inhibitorzeiten
der Karzinome
(a = Ca. gelatinosum, b = Ca. medullare,
c = Ca. simplex, d = Ca. scirrhusum)



Für die Anregung zur vorliegenden Arbeit und die freundliche Beratung bei gerinnungsphysiologischen und histologischen Problemstellungen bin ich Herrn Professor Dr. med. H. Hoffbauer und Herrn Professor Dr. med. G. Kreuzer zu großem Dank verpflichtet.

Frau H. Arndt und Frau M. Reiher danke ich für ihre außerordentliche Hilfsbereitschaft und Unterstützung in labortechnischen Angelegenheiten.



L e b e n s l a u f

Am 6. Juli 1946 wurde ich als erster von drei Söhnen des Maschinenschlossers Karl Heuberger und seiner Ehefrau Elfriede in Neustadt/Coburg geboren.

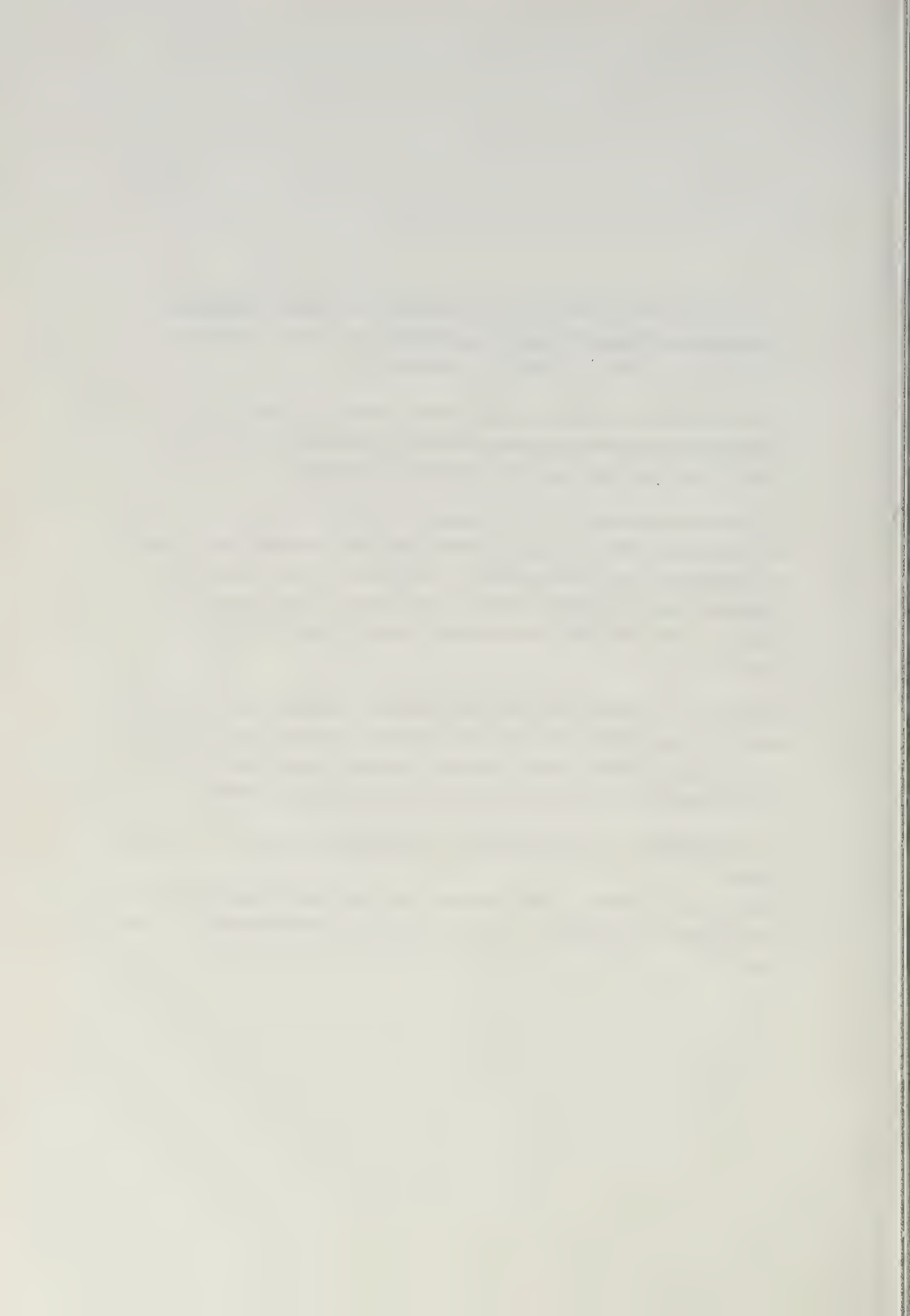
1952 wurde ich eingeschult, 1956 wechselte ich in das mathematisch-naturwissenschaftliche Gymnasium Neustadt über, das ich bis zum Abitur 1966 besuchte.

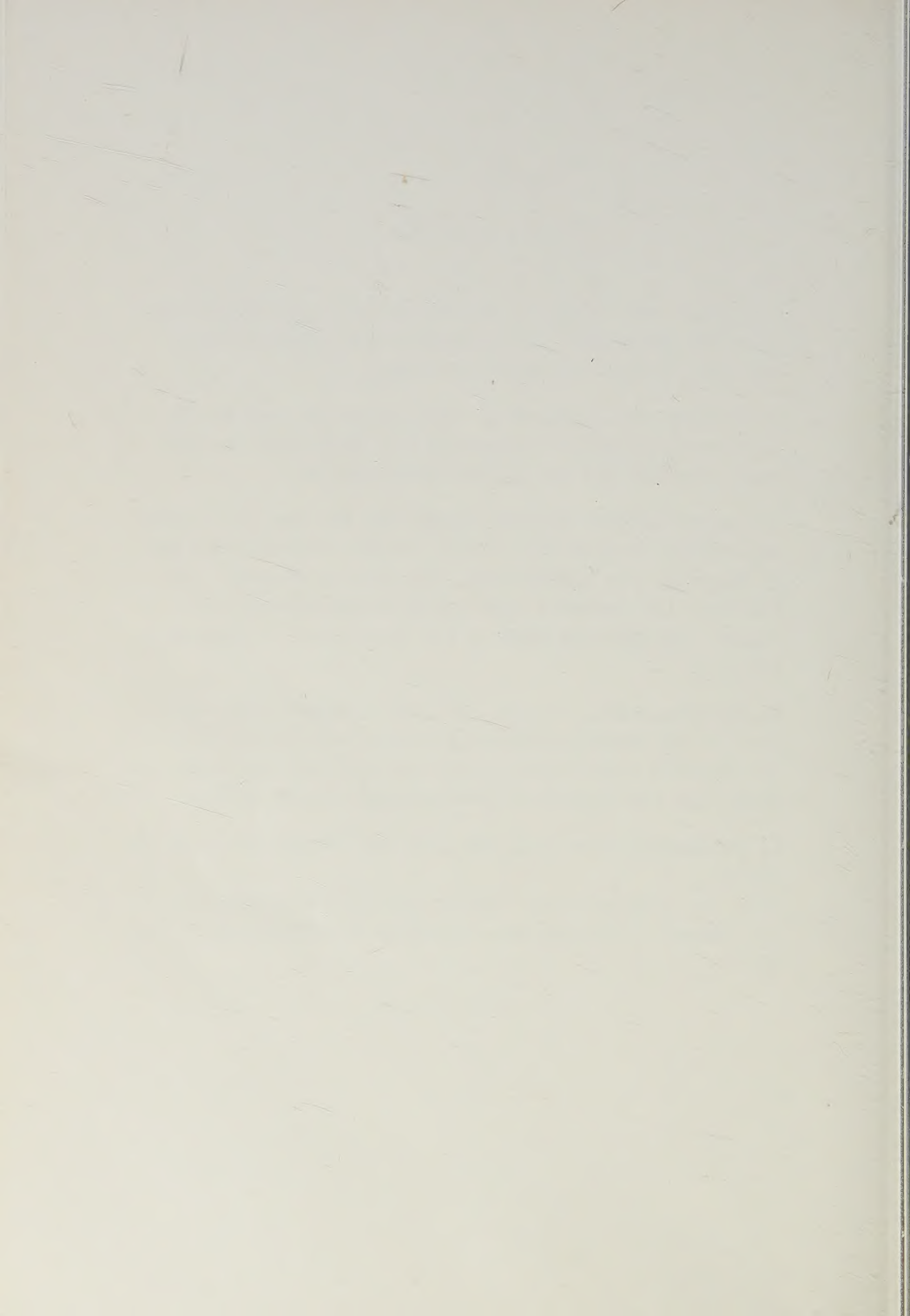
Im Wintersemester 1966/67 begann ich mit dem Medizinstudium an der Freien Universität Berlin, bestand nach dem 2. Semester das Vorphysikum, nach dem 5. Semester das Physikum und beendete nach dem 6. klinischen Semester im August 1972 mit dem Ablegen der Ärztlichen Prüfung mein Studium.

Im Anschluß daran war ich als Medizinalassistent vier Monate in der Universitätsfrauenklinik Berlin-Charlottenburg und jeweils vier Monate in der Inneren bzw. Chirurgischen Abteilung des Jüdischen Krankenhauses Berlin tätig.

Am 31. Oktober 1973 wurde mir die Approbation als Arzt erteilt.

Seit dem 1. Januar 1974 arbeite ich als Assistenzarzt in der Inneren Abteilung des Jüdischen Krankenhauses in Berlin.





B. Ladewig - Dissertationsdruck - 1 Berlin 12 - Pestalozzistraße 106
Tel.: 3128885 - 3138198